

**AURO-DEX VISUAL-ENS PNEUMOALLERGEN TEST**  
**im Vergleich zum Pharmacia CAP-System in**  
**Hinsicht auf Sensitivität, Spezifität und Präzision**

**Dissertation**

**Zur Erlangung des akademischen Grades doctor medicinae dentariae**  
**(Dr. med. dent.)**

**Vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität**  
**Jena**

**2005**

**von Sabine Pietsch**  
**geboren 19.02.1981 in Weimar**

## **Gutachter**

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.

**Tag der öffentlichen Verteidigung:**

## Widmung

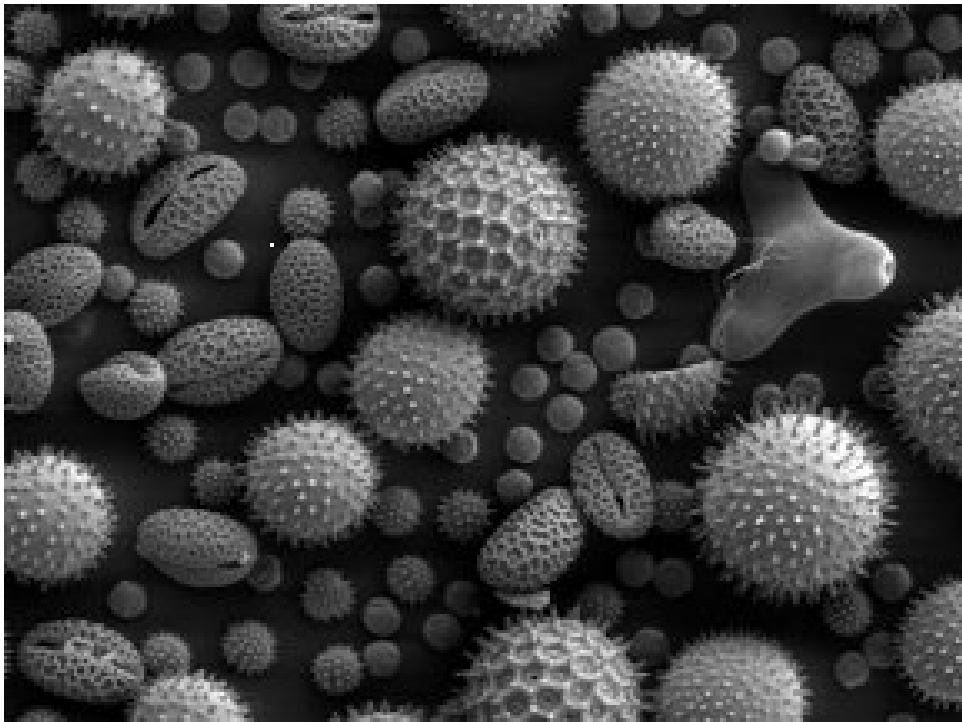
Meinen Eltern, die viele Opfer für mich erbrachten und ein Studium erst ermöglichen

Meinem Bruder, der mich in meinen Entscheidungen bekräftigte

Meiner Oma, die mir immer zur Seite stand

Und

Meinem Opa, der dieses gerne miterlebt hätte



**Abbildung 1: Fotografie verschiedener Allergie-auslösender Pollen**  
[[www.wikipedia.org/wiki/pollen](http://www.wikipedia.org/wiki/pollen)]

## Inhaltsverzeichnis

Widmung .....	3
Inhaltsverzeichnis .....	4
Abkürzungsverzeichnis (alphabetisch geordnet).....	6
1. Einleitung.....	7
1.1 Was ist eine Allergie? .....	10
1.2 Was ist eine Kreuzallergie?.....	11
1.3 Welche Arten der Überempfindlichkeitsreaktionen gibt es?.....	13
1.4 Wie wird eine Allergie behandelt? .....	13
1.5 Genetische Faktoren.....	14
1.6 Allergene .....	16
1.7 Diagnostikverfahren im Vergleich.....	18
1.7.1 In- vivo- Testverfahren an der Haut.....	20
1.7.1.1 Pricktest .....	20
1.7.1.2 Intrakutantest .....	21
1.7.1.3 Epikutantest .....	22
1.7.2 In vitro-Testverfahren: .....	23
1.7.2.1 Radio- Allergo- Sorbent- Test (RAST) .....	24
1.7.2.2 Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) .....	25
1.7.2.3 "Double-Immuno-Diffusion-Method of Ouchterlony" .....	25
1.7.2.4 Pharmacia CAP-System.....	25
1.7.2.5 Lymphozyten-Transformations-Test (LTT).....	27
1.7.2.6 Zelluläre Allergenstimulationstests .....	28
1.7.2.7 Bestimmung des Gesamt-IgE im Serum.....	29
1.7.2.8 Bestimmung der Histaminfreisetzung aus Basophilen .....	29
1.7.2.9 Bestimmung der Mediatoren aus eosinophilen Graulozyten .....	29
1.7.2.10 „Schnelltests“ .....	30
1.7.3 Provokationstests:.....	32
1.7.3.1 bronchialer Provokationstest .....	32
1.7.3.2 nasaler Provokationstest .....	33
1.7.3.3 konjunktivaler Provokationstest .....	34
1.7.3.4 Stich durch ein lebendes Insekt.....	35
1.7.4 Problematik und Risiken verschiedener Tests.....	35
2. Ziele der Arbeit .....	37
3. Material und Methodik .....	38
3.1 Patientenkollektiv .....	41

3.2 praktische Vorgehensweise .....	42
3.3 Testprinzip .....	44
3.4 Statistik .....	47
3.4.1 Spezifität .....	49
3.4.2 Sensitivität, Präzision .....	49
4. Resultate .....	50
4.1 Diagramme .....	52
5. Diskussion .....	62
5.1 Vergleich der Signifikanzwerte der Testkassetten des Auro Dex-Visual Ens Tests untereinander (Einzelallergen vs. Gemisch).....	65
5.2 Validierung der Tests .....	66
5.2.1 Validierung des Prick-Tests.....	67
5.2.2 Validierung des RAST .....	68
5.2.3 Validierung des Ouchterlony-Tests .....	69
5.2.4 Lymphozytentransformationstest.....	69
5.2.5 Validierung des CAP-Tests .....	69
5.2.6 Validierung des Atopy Panel-Tests .....	70
5.2.7 Validierung des Allergy-Screen-Tests .....	70
5.2.8 Validierung des FastCheckPOC.....	71
5.2.9 Validierung des Acti-Tip-Systems und des Allerg-Ens-Systems (Dexall) .....	71
5.2.10 Validierung des nasalen Provokationstests .....	71
5.3 Gesamtbeurteilung und Vergleich des Auro Dex-Visual Ens Tests .....	72
5.4 Schlussfolgerung .....	72
5.5 Perspektiven der In vitro-Allergiediagnostik.....	73
6. Zusammenfassung .....	74
6.1 Hintergrund .....	74
6.2 Methoden.....	75
6.3 Ergebnisse.....	75
6.4 Diskussion und Schlussfolgerung .....	76
Literaturverzeichnis .....	77
Abbildungsverzeichnis .....	85
Tabellenverzeichnis .....	86
Danksagung .....	87
Lebenslauf.....	88
Ehrenwörtliche Erklärung.....	90

## **Abkürzungsverzeichnis** (alphabetisch geordnet)

BK4301	Berufskrankheit Bäckerrhinitis
Cal	Kalibrierung beim Pharmacia CAP-Test, standardisiert
CAP	In vitro-Test der Firma Pharmacia
CRIE	gekreuzte Radioimmunelektrophorese
d.h.	das heißt
ECP	eosinophil cationic protein
EDTA	engl. für ethylene diamine tetraacetic acid (Äthylendiamintetraessigsäure)
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
Gesamt-IgE	Gesamt-Menge an IgE
GM-CSF	Granulozyten-Makrophagen-Koloniestimulierender Faktor
HLA	human leucocyte antigen
i.d.R.	in der Regel
IFN	Interferon ( $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ )
IgA	Immunglobulin der Klasse A
IgD	Immunglobulin der Klasse D
IgE	Immunglobulin der Klasse E
IgG	Immunglobulin der Klasse G
IgM	Immunglobulin der Klasse M
IL	Interleukin
n	Anzahl
MHC	major histocompatibility complex
PEFR	maximaler expiratorischer Atemstrom
RAST	Radio-Allergo-Sorbent-Test
RS-Virus	respiratory syncytial virus, Pneumovirus der Paramyxoviridae
SDS-PAGE	Sodiumdodecylsulfat-Polyacrylamidgel-Elektrophorese
slgE	spezifisches Immunglobulin der Klasse E
SPT	skin prick test, Prick-Test
TH 1,2	T-Helferzelle Typ 1 und 2
vs.	versus
WHO	World Health Organization, Weltgesundheitsorganisation
Z. n.	Zustand nach

# 1. Einleitung

Wissenschaftler haben bereits mehr als 20000 allergieauslösende Stoffe entdeckt. In Deutschland sind 15 bis 20% der Bevölkerung von atopischen Krankheiten betroffen, und eine allergische Sensibilisierung ist bereits bei einem Drittel der Bevölkerung nachweisbar. Allergien drohen zur „Epidemie des 21. Jahrhunderts“ zu werden, nachzulesen im „Spezialbericht Allergien“ des Statistischen Bundesamtes 2000 [Wahn U. und Wichmann H. 2000]. Daher ist es für den Arzt oft nicht leicht herauszufinden, was den Patienten plagt. Es gibt zahlreiche Tests - dass sie zuverlässig, wenig zeitaufwendig, allgemein verfügbar und zudem kostengünstig sind, ist das Anliegen vieler Ärzte.

In der vorliegenden Arbeit sollte ein solcher Allergietest unter anderem auf seine Sensitivität, Spezifität und Präzision untersucht werden.

Diese erste Stufe der allergologischen Diagnostik schließt an die Anamnese und die körperlichen Untersuchung des Patienten an. Ihr folgen weiterführende Bestimmungen seltener spezifischer Typ-1-Sensibilisierungen und Bestätigungstests zur Erlangung einer höheren Spezifität (u. a. Prick-Test, Intrakutantests, Organprovokationstests etc.).

Die Bestimmung des Gesamt-IgE ist in einigen Fällen indiziert: im Rahmen der Diagnostik angeborener oder erworbener Immundefekte, zur Diagnostik und Therapiekontrolle bei Parasitosen, zur Differentialdiagnostik bei Vaskulitiden und als Hinweis für das Vorliegen einer atopischen Disposition.

Antikörper der Immunglobulinklasse E (IgE) kommen im Serum im Vergleich zu den anderen Immunglobulinklassen in wesentlich geringerer Konzentration vor. Sie besitzen die Fähigkeit, über die Bindung an selektiv hoch- und niedrigaffine zelluläre Rezeptoren spezifische Reaktionen des Immunsystems auszulösen [Sutton B. und Gould H. 1993]. Sie unterscheiden sich strukturell von IgG-Antikörpern durch eine zusätzliche so genannte CH-Region auf der konstanten Region der schweren Kette. Die IgE-Antikörper sind also klinisch vor allem bedeutsam bei parasitären Erkrankungen, bei allergischen Erkrankungen vom Soforttyp und bei seltenen Systemerkrankungen.

Die Bestimmung des Gesamt-IgE stellt dennoch keine geeignete Methode zum Nachweis oder Ausschluss einer Allergie dar. Bei altersabhängigen Normwerten (95 % Konfidenzintervall) zwischen 15 und 330 kU/l kann trotz eines „normalen Gesamt-IgE“ eine Sensibilisierung gegen Inhalationsallergene vorliegen [Urbanek R. et al. 1999]. Auch hohe Gesamt-IgE-Werte im Bereich von über 100 bis 330 kU/l sind nicht beweisend für eine Allergie [Backer V. et al. 1992].

Screening-Konzepte spielen eine immer stärker werdende Rolle in der Allergiediagnostik und finden bereits bei Verdacht auf Allergie Anwendung. Sie sollten alle häufigen Allergene enthalten, einfach in der Durchführung und exakt in der Detektion einer spezifischen Sensibilisierung sein.

Verschiedene derartige Tests sind seit einigen Jahren auf dem Markt zu finden, so dass heutzutage relativ kostengünstig eine große Anzahl an Allergenen getestet werden kann.

Immer mehr neue Marker werden gesucht, um die Diagnose einer Allergie einfacher und sicherer zu gestalten. Hierzu wird besonders gezielt im Bereich von zellulären und humoralen Signalüberträgerstoffen, aber auch auf molekularbiologischer Ebene geforscht [Ishizaka K. und Ishizaka T. 1967] [Wuthrich B. et al. 1995].

Mithilfe von In vitro-Testverfahren kann die Spezifität der Fraktion der gesamten IgE-Antikörper im Serum gegenüber bestimmter Allergene ermittelt werden. Der Nachweis von sIgE (spezifisches IgE) bedeutet, dass eine spezifische Sensibilisierung gegenüber entsprechenden Allergenen vorliegt. Das sIgE ist trotzdem nur ein Parameter in der klassischen allergologischen Stufendiagnostik. Die Bestimmung von sIgE im Serum und die Hauttestung sind in der Allergiediagnostik grundsätzlich als gleichwertig zu betrachten. Zur Bestimmung des sIgE werden primäre und sekundäre Indikationen unterschieden. Der primäre Nachweis von sIgE, d. h. Bestimmung vor anderen diagnostischen Maßnahmen wie der Hauttestung, ist indiziert bei Bedingungen, unter denen die Hauttestung schwierig durchzuführen ist (Säuglinge, Patienten mit Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Gravidität, Hautveränderungen im Testbereich oder Antihistaminika-Einnahme), bei Testung von Allergenen, die für die Hauttestung nicht verfügbar sind oder bei Gefährdung des Patienten (Z. n. anaphylaktischem Schock, Verdacht auf hochgradige Sensibilisierung, Einnahme von interferierenden Medikamenten (beta-Blocker, ACE-Hemmer). Der sekundäre Nachweis von sIgE, d. h. die Bestimmung nach anderen



diagnostischen Maßnahmen ist indiziert als zusätzlicher Baustein bei Diskrepanz zwischen Hauttest und Anamnese und in Einzelfällen bei weiteren klinisch ausgewählten Fragestellungen zur zusätzlichen Abschätzung des Sensibilitätsgrades, auch als zusätzliche Maßnahme zur Vorbereitung für die Provokation oder die spezifische Immuntherapie.

Nach wie vor sind In vitro-Testverfahren Standard zur Detektion der spezifischen IgE-Antikörper. Die bekanntesten sind der Pharmacia Radio Allergo Sorbent Test (RAST), der radioaktiv markierte Antikörper nutzt, und das Pharmacia CAP System, welches mittels einer enzymatischen Reaktion funktioniert. Beide Tests werden ausschließlich in spezialisierten Laboratorien angewendet und sind nicht im normalen Praxisalltag durchführbar. Die Sensibilität der Screening-Tests ist noch immer deutlich niedriger als die des RAST- oder CAP-Systems.

In der vorliegenden Untersuchung wurden zwei verschiedene Verfahren verglichen: der Fluoreszenz-Enzym-Immunoassay (CAP) der Firma Pharmacia Diagnostics und der Auro-Dex-Visual-Ens-Screening-Test der Firma Dexall. Zehn Pneumoallergene sowie zehn aus den wichtigsten Allergenen zusammengefasste Gruppen wurden gegenübergestellt und in Hinsicht auf Spezifität und Sensitivität überprüft.

Präanalytik, Analytik und Postanalytik beeinflussen die Qualität der Labordiagnostik. Im präanalytischen Teil haben Aspekte der Indikationsstellung sowie die Probenabnahme, -aufbereitung, -lagerung und -handhabung Priorität. Die Analyse überprüft die Methode hinsichtlich Reproduzierbarkeit, Sensitivität, Spezifität und technische Durchführung. Interpretation, Beurteilung und Einordnung des Testbefundes zum Krankheitsbild gehört zum postanalytischen Teil.

An dieser Stelle muss erwähnt werden, dass für In vitro-Allergiediagnostik die gleichen Qualitätsgesichtspunkte und Qualitätssicherheitsmaßnahmen gelten müssen wie sie für andere Bereiche der Labordiagnostik angewendet werden.

Im Folgenden soll aber zunächst auf das Krankheitsgeschehen und die Pathomechanismen der Allergien eingegangen werden.

## **1.1 Was ist eine Allergie?**

Der Begriff Allergie wurde 1906 erstmals vom Österreicher Clemens von PIRQUET als "eine veränderte Fähigkeit des Körpers auf eine Fremdsubstanz zu reagieren" [Janeway C. et al. 2001] definiert. Er setzte die beiden griechischen Worte "allos" (unterschiedlich oder verändert) und "ergos" (Arbeit, Aktion) zusammen [Mygind N. 1989].

Eine Allergie ist eine übertriebene, nicht physiologische und ungeeignete Reaktion der Organe und Gewebe gegen bestimmte, normalerweise "harmlose" Stoffe (Allergene) aus der Umwelt, die von der normalen, nicht adaptiven Immunantwort ausgeht. Der Nebeneffekt ist, dass das körpereigene Gewebe geschädigt wird, da sich der Körper mit einer entweder zu großen Antigenmenge auseinandersetzen muss oder mit einer überschießenden Antikörperproduktion reagiert. Nach RING wird Allergie als „spezifische Änderung der Immunitätslage im Sinne einer krankmachenden Überempfindlichkeit“ definiert [Ring J. 1995].

Nach dem Erstkontakt mit dem entsprechenden Allergen kommt es zur Sensibilisierung, was bedeutet, dass der Patient bei jeder weiteren Exposition mit dem auslösenden Stoff extrem empfindlich reagiert. Die Überempfindlichkeitsreaktion kommt schon durch geringste Mengen des Allergens zum Ausbruch. Die Intensität ist vom immunologischen Gedächtnis für das bestimmte Allergen abhängig.

Sonderfälle stellen Antikörper- bzw. T-Lymphozyten-bedingte, gegen körpereigene Antigene gerichtete Überempfindlichkeitsreaktionen dar (Autoimmunerkrankungen).

## **1.2 Was ist eine Kreuzallergie?**

Grundsätzlich ist eine Allergie immer sehr spezifisch gegen einen Stoff, dem Allergen, gerichtet. Es gibt allerdings Allergene, die sich in ihrer Struktur und/oder Zusammensetzung ähnlich sind. Bei der Sofort-Typ-Allergie stehen dabei Reaktionen auf Nahrungsmittel und Pollen im Vordergrund.

Die Kreuzreaktion ist eine immunologische Reaktion spezifischer Antikörper bzw. spezifisch sensibilisierter T-Lymphozyten mit unterschiedlichen Substanzen (i.d.R. Proteine, Glykoproteine, Kohlenhydrate) die demnach ähnliche oder identische antigene Determinanten besitzen. Der Patient reagiert also auf mehrere Allergene mit einer Überempfindlichkeit [Zuberbier t. et al. 1999].

Kreuzreaktionen beruhen auf der Strukturähnlichkeit zwischen Inhalations- und alimentären Antigenen, welche durch IgE-Antikörper erkannt werden. Im Allgemeinen werden diese IgE-Antikörper durch inhalative Allergene induziert. Die Pollenallergen-assoziierten Nahrungsmittelallergien sind die häufigste Ursache von Nahrungsmittelunverträglichkeiten beim Jugendlichen und Erwachsenen, die auf Kreuzreaktionen basieren. Die Nahrungsmittelallergien treten bei entsprechender Pollensensibilisierung auf, unabhängig davon, ob diese zu Symptomen einer Pollinose geführt hat oder nicht. Klinisch wird meist eine milde, auf den Oropharynx beschränkte Lokalreaktion (orales Allergiesyndrom) beobachtet.

Besonders gut untersucht und dokumentiert sind Kreuzreaktionen zwischen den Birkenpollenallergenen Bet v 1 und Bet v 2 und ähnlichen Allergenen in Nahrungsmitteln wie Apfel, Haselnuss oder Sellerie. Je nach Allergen manifestiert sich eher eine orale (Bet v 1) oder eine generalisierte Symptomatik (Bet v 2). Kreuzreaktionen sind für den klinisch tätigen Arzt und Allgemeinmediziner wichtig, da diese für die Mehrheit der Nahrungsmittelallergien bei Erwachsenen verantwortlich sind. Die Kreuzallergien treten jedoch immer patientenabhängig auf [Schwertner H. 2003]. Patienten sollten daher ausschließlich die Kreuzallergene meiden, die ihnen Schwierigkeiten machen bzw. sich einer Hyposensibilisierung unterziehen, die auch Kreuzallergien verschwinden lässt.

Beispielallergene der Sofort-Typ-Allergie und ihre Kreuzallergene

(Abb.1)

Gräserpollen	-	Getreide-Mehle, Erdnuss, Soja
Frühblüherpollen	-	Apfel (besonders grünschalige Sorten), Aprikose, Erdbeere, Kirsche, Pflaume, Haselnuss, Mandel, Kartoffel (roh), Paprika, Tomate, Anis, Karotte, Kümmel, Sellerie, Fenchel, Koriander
Beifußpollen	-	Anis, Karotte, Kümmel, Sellerie, Fenchel, Kamille, Curry, Ingwer, Muskat, Pfeffer, Tomate, Paprika
Latex	-	Avocado, Banane, Kiwi, Kartoffel (roh), Tomate, Kastanie, Ficus benjamina (Birkenfeige)
Hausstaubmilbe	-	Meeresfrüchte, Schnecke

An dieser Stelle soll die **Pseudoallergie** benannt und von der Kreuzallergie deutlich abgegrenzt werden.

Pseudoallergien und "echte" Allergien werden oft miteinander verwechselt. Bei beiden sind die Symptome zwar ähnlich, jedoch unterscheidet sich das ursächliche Krankheitsgeschehen.

Bei der Pseudoallergie ist das Immunsystem nicht beteiligt; im Blut der betroffenen Personen werden keine Antikörper gebildet. Wie bei Allergien kommt es zur Ausschüttung von Histamin aus den Mastzellen, die zu allergie-ähnlichen Symptomen und Krankheitsverläufen führen. Bei der Pseudoallergie sind es bestimmte, in den Lebensmitteln enthaltene Botenstoffe, die eine Histaminausschüttung auslösen. Anders als Symptome bei Allergien sind pseudoallergische Reaktionen oft dosisabhängig. Daher können betroffene Personen geringe Mengen des jeweiligen pseudoallergischen Stoffes aufnehmen, ohne dass Krankheitssymptome auftreten [Zuberbier t. et al. 1999].

### 1.3 Welche Arten der Überempfindlichkeitsreaktionen gibt es?

Die Aufteilung in vier Reaktionstypen (I-IV) nach COOMBS und GELL erfolgt auf Grund der unterschiedlichen Mechanismen, die häufig gleiche Effekte hervorrufen [Coombs 1963] (Tab.1).

Die Reaktionen I bis III entstehen auf Grund von Antikörpern, der Zweitkontakt läuft schneller ab, währenddessen die IV. Reaktion zellvermittelt (T-Zellen und Makrophagen) ist und zudem bei erneutem Kontakt langsamer abläuft [Staines N. et al. 1999].

**Tabelle 1: Überempfindlichkeitsreaktionen nach GELL und COOMBS**

[Rauscher C. 2003]

Typ	Pathomechanismus	Klinik
Typ I	IgE	Atopische Erkrankungen Allergien, Asthma
Typ II	IgG, IgM	Hämolytische Transfusionsreaktion
Typ III	Immunkomplexe	Exogen allergische Alveolitis, Serumkrankheit
Typ IV	T-Lymphozyten	Kontaktallergie, Tuberkulin-Reaktion, Hypersensitivitäts- Pneumonitis

### 1.4 Wie wird eine Allergie behandelt?

Sofort nach der Diagnose der Allergie sollte das entsprechende Allergen gemieden werden. Durch Hyposensibilisierung wird versucht, die Überempfindlichkeitsreaktionen herunterzufahren. Das Allergenextrakt wird in verdünnter, aufsteigender Konzentration unter die Haut appliziert oder oral (Sublingualtechniken) aufgenommen. Die Therapiedauer richtet sich nach dem

klinischen Effekt. Als Faustregel haben sich Behandlungszeiten von drei Jahren etabliert, ohne dass diese Zeit durch evidenzbasierte Studien gedeckt wäre. Insektengiftallergien werden z.B. häufig vier bis fünf Jahre behandelt. Dadurch soll der Körper lokale Toleranzphänomene (Eintrittspforten z.B. bei Sublingualtherapie) aber auch generalisierte Toleranz durch Homing-Phänomene von T-Zellen entwickeln. Diese wird durch Allergieexposition nach abgeschlossener Hyposensibilisierung mittels eines Prick-Tests (Endpunkttitration) geprüft. Durch zahlreiche Medikamente (Antihistaminika, Cortisone) kann die Überempfindlichkeitsreaktion unterdrückt werden. Hierbei werden allerdings nur die Symptome behandelt, nicht die Ursachen [Staines J. et al. 1999]. Sicher ist, dass eine orale Aufnahme der Antigene besser vom Körper toleriert wird. Es treten weniger Reaktionen auf, als bei subcutan oder inhalativ aufgenommenen Stoffen. Dass heißt, dass für jeden Patienten individuell die geeignete therapeutische und symptomatische Behandlung gefunden werden muss.

Jeder Patient muss selbst gegen seine Allergie vorbeugen. Das bedeutet in erster Linie Allergenkarenz. Wohnungen können beispielsweise auf Schimmelpilze untersucht werden und gegebenenfalls saniert werden. Tierhaarallergiker sollten den Kontakt zu entsprechenden Tieren vermeiden, Patienten mit Hausstaub-Allergie sollten ihre Wohnzimmer (Achtung bei Teppichen, Polstermöbel, Zimmerpflanzen) und Schlafzimmer (regelmäßiges Wechseln und Pflegen der Bettwäsche) allergenarm einrichten [Staines J. et al. 1999].

## **1.5 Genetische Faktoren**

Als **Atopie** wird die Veranlagung auf eine Vielzahl von Umweltantigenen mit übersteigter IgE-Antwort zu reagieren, beschrieben.

Ein höherer IgE-Spiegel und eine höhere Konzentration von eosinophilen Granulozyten sind bei prädisponierten Personen deutlich nachweisbar. Sie leiden an einer höheren Anfälligkeit auf Asthma und Heuschnupfen [Janeway C. et al. 2001]. Trotzdem muss immer klar eine andere Ursache für die IgE-Spiegelerhöhung ausgeschlossen werden können (Parasitosen, Hyper-IgE-Syndrom, Wurmerkrankungen).

Von Bedeutung könnten Genloci auf den Chromosomen 11q und 5q sein.

Beispielsweise codiert ein Gen auf Chromosom 11q die  $\beta$ -Untereinheit des hochaffinen IgE- Rezeptors. Auch zu erwähnen ist eine Gengruppe auf dem Chromosom 5q. Sie codiert IL-3, IL-4, IL-5, IL-9, IL-12, IL-13 und GM-CSF, welche für den Isotypenwechsel, für das Überleben von Eosinophilen und für die Vermehrung von Mastzellen essentiell sind [Marschall W. J. 2000].

Zu beobachten ist, dass die erhöhte Konzentration an IgE bei atopischen Personen mit der vererbaren genetischen Variante des IL-4-Promotors assoziiert.

Die Mutation der  $\alpha$ -Untereinheit des IL-4-Rezeptors löst mittels eines Funktionsgewinnes ebenfalls eine Atopie aus (verstärkte Signalübertragung nach Ligandbindung an den Rezeptor) [Humbel R. L. 1998].

Bestimmte Allele der HLA-Klasse assoziieren mit der spezifischen allergenbedingten IgE-Produktion. Weiter zu erwähnen ist, dass MHC-Peptid-Kombinationen eine starke TH2-Reaktion begünstigen:

Eine Beifußpollenallergie tritt vermehrt auf, wenn Haplotypen MHCII oder HLA-DRB1\*1501 enthalten, oder wenn Polymorphismen auftreten.

Bei der allergischen Asthmareaktion sind Hinweise vorhanden, dass IgE-Erzeugung, Entzündungsreaktion und die klinische Reaktion auf bestimmte Behandlungsarten dem Einfluss verschiedener Gene unterliegen.

Kinder mit Bronchiolitisanfällen in Verbindung mit dem RS-Virus (respiratory syncytial virus) neigen zur Erkrankung an Asthma im adulten Leben. Eine veränderte Zytokinproduktion bewirkt, dass mehr IL-4 und weniger IFN- $\gamma$  produziert wird, was die TH2-Reaktion auslöst.

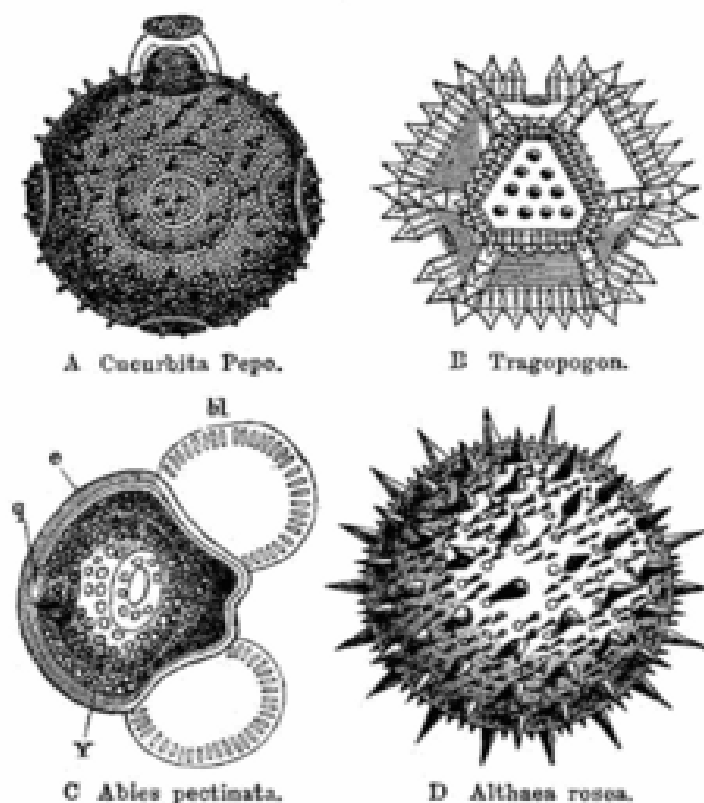
Als weitere wichtige Ursachen für das gehäufte Auftreten von Atopien und besonders Asthma sind folgende zu nennen [Janeway C. et al. 2001]:

- veränderter Kontakt mit Infektionskrankheiten in früherer Kindheit
- Umweltverschmutzung
- veränderte Allergenkonzentration
- Veränderungen bei der Ernährung.

## 1.6 Allergene

Allergene sind Antigene, die eine Überempfindlichkeits- oder allergische Reaktion auslösen [Janeway C. et al. 2001]. Es handelt sich meist um Proteine und Glykoproteine. Bestimmte Charakteristika scheinen die allergisierende Wirkung zu erleichtern und die Fähigkeit Haut und Schleimhaut zu durchdringen zu fördern. Oft haben sie Enzymwirkung (z.B. Proteasen), ein niedriges Molekulargewicht und gute Löslichkeit, Stabilität sowie natürliche Exposition in geringen Mengen.

Die individuelle Jahresmenge an inhalierten Pollenallergenen erreicht meist nur wenige Mikrogramm [Grevers G. und Röcken M. 2001]. Man unterscheidet Inhalationsallergene (Abb. 2) (z.B. Pollen, Schimmelpilzbestandteile, Haut-, Speichel-, Kot-, und Urin- Komponenten von Tieren sowie Vogelfedern und Milbenbestandteile), Ingestitionsallergene (z.B. Nahrungsmittel und Medikamente) und Injektionsallergene (z.B. Arzneistoffe und Insektengifte) [Grevers G. und Röcken M. 2001].



**Abbildung 2: ausgewählte Pollen als Inhalationsallergene** [Free Encyclopedia 2003]



Allergene sind Antigene, die bei TH2-Zellen selektiv den Isotypwechsel zur IgE-Klasse hervorrufen lassen. Die meist löslichen Proteine kommen auf der Oberfläche von trockenen Partikeln (Pollenkörner oder Milbenkot) vor. Die Eluation des Proteins vom Partikel geschieht beim Kontakt mit der Schleimhaut, folglich diffundiert es in sie [Janeway C. et al. 2001].

Der Allergeneintritt geschieht am häufigsten über die Atemwege. Im Atmungsepithel stellen die antigenpräsentierenden Zellen die myeloiden dendritischen Zellen dar. Durch sie werden z.B. Proteinantigene aufgenommen und einer effizienten Prozessierung unterworfen. Dabei werden sie zur Wanderung in die regionalen Lymphknoten aktiviert. Hier können sie sich zu professionellen Zellen, die in hohem Maße costimulierend auf TH2-Zellen wirken, differenzieren.

Die transmucosale Präsentation niedriger Allergendosen induziert die IgE-Antwort von TH2-Zellen besonders effizient [Janeway C. et al. 2001].

Es wurde eine spezielle Nomenklatur entwickelt um eine einheitliche Bezeichnung gereinigter Einzelallergene zu gewährleisten.

Es soll an folgendem Beispiel erläutert werden:

Die Bezeichnung z.B. „**Der p 1**“ setzt sich zusammen aus:

- den ersten 3 Buchstaben der Gattung (Dermatophagoides)
- dem Anfangsbuchstaben der Spezies (pteronysinus)
- und einer römischen Zahl, die die Reihenfolge der Isolierung bezeichnet, wobei das im Vordergrund stehende Allergen die Nummer 1 erhält [Grevers G. und Röcken M. 2001].

Die Vielzahl der Allergene lässt sich durch die Bildung von Klassen übersichtlicher gestalten. Entsprechend des Auftretens über das Jahr hinweg, werden saisonale und perenniale Allergene unterschieden.

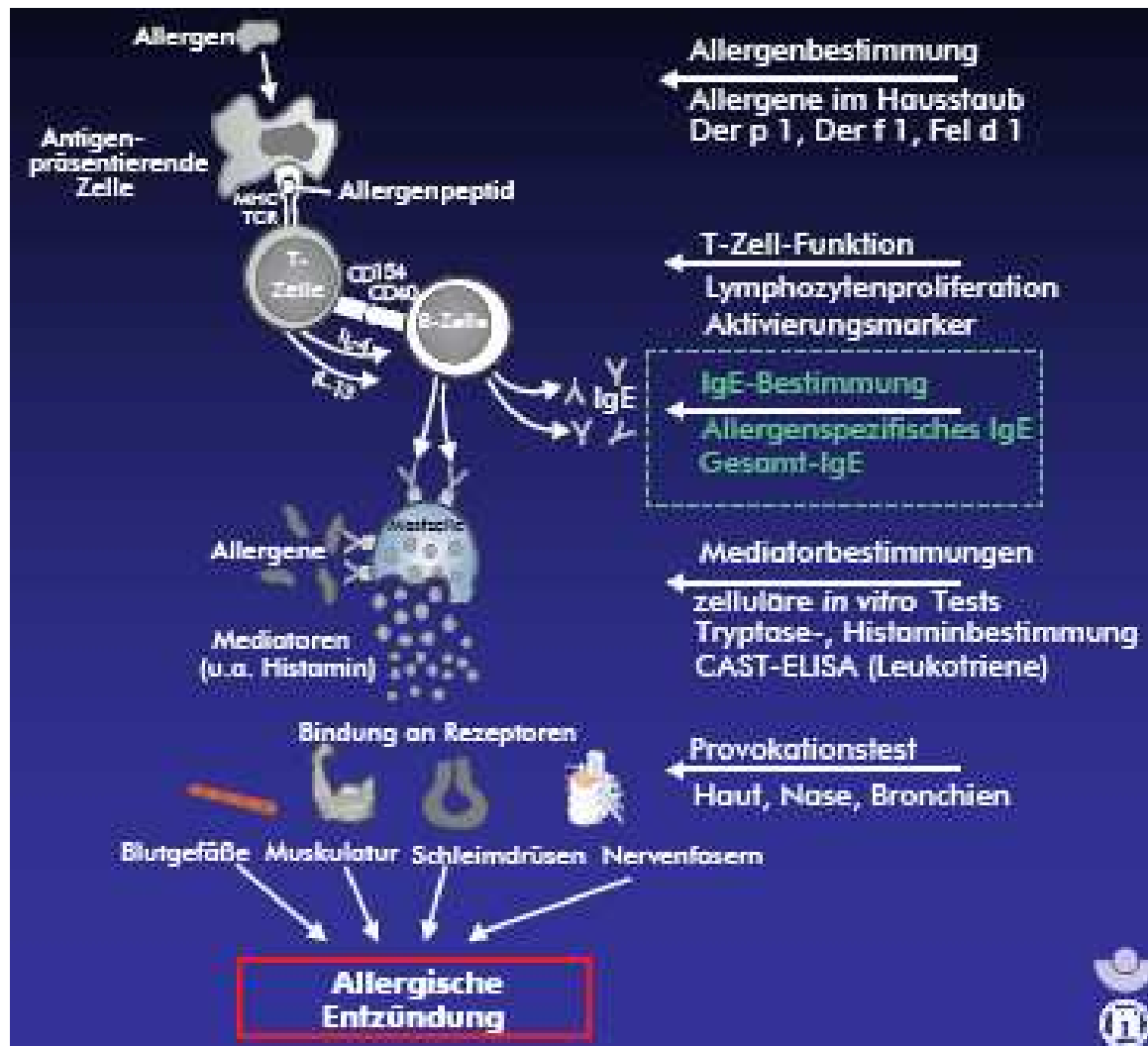
## **1.7 Diagnostikverfahren im Vergleich**

1921 machte Dr. Carl PRAUSNITZ erstmals einen Versuch, welcher bestätigte, dass Allergie durch Serum übertragen wird. Das Serum seines gegen Fisch allergischen Patienten Heinz KÜSTNER injizierte er in seinen Arm, der am darauf folgenden Tag nach Injektion von Fischextrakt in dieselbe Stelle mit Quaddelbildung positiv reagierte. Damit war der erste Allergietest als "Prausnitz-Küstner-Reaktion" entwickelt worden. Dieses Experiment nahm für lange Zeit eine Schlüsselposition als klassische Bestimmungsmethode der reaginen Aktivität ein [Mygind N. 1989].

Bei jedem Verdacht auf eine allergische Erkrankung müssen andere, nichtallergische Krankheiten ausgeschlossen und der genaue körperliche Zustand des Betroffenen eruiert werden. Deshalb ist nach der Anamnese die körperliche Untersuchung zur Groborientierung und als Grundlage weiterer Untersuchungen indiziert. Wichtig ist dabei eine Schwerpunktuntersuchung des betroffenen Organsystems vorzunehmen [Grevers G. und Röcken M. 2001].

Heutzutage gibt es zahlreiche Möglichkeiten, eine anamnestisch vermutete Allergie zu bestätigen. Provokationstests können auf verschiedene Weisen durchgeführt werden. Natürlich müssen vorher die Risiken gut durchdacht werden, da eine Konfrontation des sensibilisierten Organismus mit dem Allergen unter Umständen enorme Reaktionen, bis hin zum anaphylaktischen Schock, auslösen kann. Des Weiteren besteht die Möglichkeit, einen nicht- sensibilisierten Patienten zu sensibilisieren.

Deshalb müssen genaue Überlegungen angestellt werden, welche Diagnostika individuell für den jeweiligen Patienten durchgeführt werden können. Hierzu eine kurze Übersicht über verschiedene diagnostisch nutzbare Schritte der allergischen Reaktion (Abb. 3):



**Abbildung 3: Übersicht über die diagnostisch nutzbaren Schritte der allergischen Reaktion** [Heimsoth R. 2005]

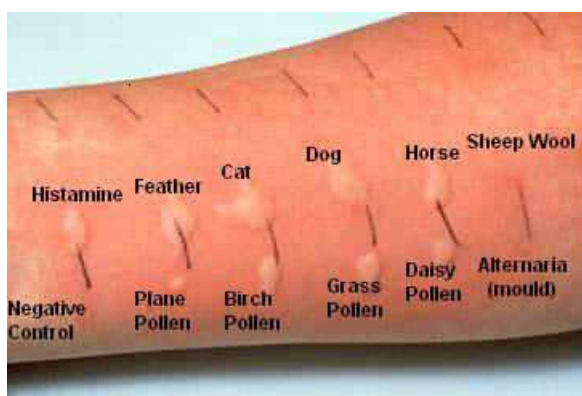
### 1.7.1 In- vivo- Testverfahren an der Haut

TypI-Reaktionen werden am häufigsten mit dem Prick- oder Intrakutantest diagnostiziert. Als Sonderformen gelten hier der Scratchtest oder der Reibetest [Heppt W. et al. 1998].

Zur Diagnostik von TypIV- Reaktionen wird der Epikutantest angewandt. Weiterhin ist der Intradermaltest, der Photopatchtest und als Sonderformen der Patchtest in der Effloreszenz, ein offener Epikutantest oder der Atopiepatchtest möglich.

#### 1.7.1.1 Pricktest

In ein bis zwei Reihen werden an einen oder beiden Unterarmnenseiten in 3 bis 5 cm Abstand Markierungen gesetzt und jeweils ein Tropfen der allergenhaltigen Lösung aufgebracht. Dann wird jeder Tropfen mit einer Lanzette durchstochen. Dabei darf kein Blut aus dem Einstich treten. Es erfolgt immer eine Testung mit physiologischer Kochsalzlösung zum Ausschluss einer Urticaria factitia als Negativkontrolle, sowie eine Positivkontrolle mit Histaminhydrochlorid zur Beurteilung der Reaktionsfähigkeit. Das Ergebnis sollte etwa 20 Minuten nach Aufbringen des Tests abgelesen werden (Abb. 3).



**Abbildung 4: Fotografie eines Armes mit Urticaria nach Prick-Testung mit verschiedenen Allergenen** [www.allergyclinic.co.uk/ asthma.htm]

Die ulnare Seite des Armes ist reaktiver als die radiale Seite. Die Knöchelregion ist wiederum weniger reaktiv als die Ellbogenregion [Nelson HS, 1983]. Es gibt Unterschiede im Testergebnis zu verschiedenen Tageszeiten: 7 Uhr früh ist die

Reaktion auf Allergene und Histamin geringer als am späten Nachmittag bzw. frühen Abend [Pope A. et al. 1993].

Wichtig zu erwähnen ist, dass Patienten im Pricktest Positivreaktionen aufweisen können bevor sie allergische Symptome entwickeln.

#### **1.7.1.2 Intrakutantest**

Hier werden etwa 50 µl einer allergenhaltigen Lösung in aufsteigenden Konzentrationen direkt und streng intrakutan injiziert. Falls ein Pricktest vorangegangen ist, wird mit 1% der im Pricktest negativen Allergenlösung begonnen. Dieses Testverfahren kann vor Hyposensibilisierungen und zur Quantifizierung einer Sensibilisierung (bspw. Verdacht auf Hymenopterengiftallergie) angewandt werden, da er sehr sensitiv ist.

Die Durchführung einer Titration zur Bestimmung des Sensibilisierungsgrades geschieht alle 20 Minuten mit 3- bis 10fach höherer Konzentration bis eine eindeutig positive oder negative Reaktion auftritt [Pope A. et al. 1993].

Bei allen Hauttests werden nur eindeutige Reaktionen (Quaddelbildung <3mm Durchmesser, i.d.R. Reflexerythem) als positives Ergebnis gewertet. Ein positiver Test sollte nicht allein zur Diagnostik ausreichen. Die Interpretation der spezifischen IgE in der Klinik kann bei der Beurteilung helfen [Janeway C. 2001].

Falsch positive bzw. falsch negative Ergebnisse können vielerlei Ursachen haben.

### 1.7.1.3 Epikutantest

Überempfindlichkeitsreaktionen vom TypIV können mittels des Epikutantests diagnostiziert werden.

Standardisierte Allergenaufbereitungen werden auf den Rücken in Wasser gelöst oder in weißer Vaseline für 48 Stunden unter einer Aluminiumkammer (*Finn-Chamber*) aufgebracht. Auf Grund der geringen Wahrscheinlichkeit einer Kontaktallergie wird Acrylkleber zur Fixation der Kammer verwendet. Die Ablesung sollte beim Aufkleben der Allergene, beim Ablösen nach 48 Stunden sowie nochmals nach 72 Stunden erfolgen. Es gibt zahlreiche Standardreihen, eine davon wählt der Dermatologe nach eingängiger Anamnese aus. Ein solcher Testblock beinhaltet in der Regel 20 bis 25 unterschiedliche Allergene. Die Testung nicht normierter Substanzen ist spezifischen Zentren vorbehalten. Der Patient darf auf der zu testenden Haut und am übrigen Körper keine Ekzeme aufweisen und nicht zu stark gebräunt sein (bei sonnenexponierter Haut treten häufiger falsch- negative Ergebnisse auf). Falls die verdächtigen Allergene auch eine TypI- Reaktion auslösen können (z.B. Latex), ist der Epikutantest nicht geeignet.

Es besteht die Gefahr, dass eine toxische Reaktion mit einer allergischen verwechselt wird, da einige Allergene in Grenzkonzentrationen getestet werden. Das geschulte Auge des Dermatologen muss dieses genau differenzieren können. Eine irritative Reaktion klingt nach Ablösen des Pflasters ab, währenddessen eine Überempfindlichkeitsreaktion nach einigen Tagen zunimmt [Janeway C. 2001].

### 1.7.2 In vitro-Testverfahren:

In vitro-Tests korrelieren überaus gut in Spezifität und Sensibilität mit dem tatsächlichen Vorliegen einer Erkrankung.

Zahlreiche Methoden zur Bestimmung des sIgE, die alle auf ähnlichen Prinzipien beruhen, zählen zu den klassischen Bestimmungsmethoden. Spezifische Allergenextrakte und teils verfügbare rekombinante Allergene werden entweder an eine feste Phase gekoppelt, oder als Flüssigallergene eingesetzt, an die Immunglobuline mit entsprechender Spezifität nach Inkubation binden [Boccagni P. et al. 1994]. Im Fall der Verwendung von Festphasen sollten deren Oberfläche sowie eine ausreichende Menge und Qualität der Allergene sicherstellen, dass im Idealfall die Gesamtheit des sIgE gebunden werden kann. Nach Entfernen der ungebundenen Immunglobuline werden in einem anschließenden Inkubationsschritt radioaktiv mit Fluoreszenz markierte oder enzymgekoppelte Anti-IgE-Antikörper zugesetzt. Die gebundenen Anti-IgE-Antikörper werden entweder durch direkte Bestimmung der Radioaktivität und Fluoreszenzintensivität oder nach Zusatz eines Substrates durch die Messung der enzymatisch eingeleiteten Farbreaktion nachgewiesen. Die Quantifizierung gelingt durch eine auf bekannte sIgE-Mengen bezogene Eichkurve. Dabei werden künstlich definierte Einheiten verwendet oder eine dem WHO-Standard für Gesamt-IgE-Werte angepasste Eichkurve zur Bestimmung der sIgE-Werte zugrunde gelegt (so genannte heterologe Interpolation). Somit ist bis heute eine echte Quantifizierung des sIgE im eigentlichen Sinne nicht möglich. Abgesehen von den verwendeten Allergenen unterscheiden sich die Testsysteme nicht nur in der Festphase zur Kopplung der Allergene, sondern auch in den notwendigen Reagenzien und dem anschließenden Detektionssystem.

Das Ergebnis dieser Tests kann nur im Zusammenhang mit Anamnese, Klinik und den eventuell zusätzlichen Ergebnissen organspezifischer Provokationstests richtig interpretiert werden. Die quantitativen Ergebnisse der sIgE-Bestimmung werden üblicherweise von den verschiedenen Herstellern in Graduierungen oder Klassen eingeteilt. Verschiedene Hersteller bieten eigene Qualitätskontrollen an, die eine Vergleichbarkeit der Testergebnisse zwischen den Laboratorien sicherstellen sollen. Da die meisten Erfahrungen mit dem seit langem verfügbaren Phadebas-RAST-System und seiner Weiterentwicklung, dem CAP-System, vorliegen, sind beide

Methoden in vielen Studien als Referenzsysteme für vergleichende Untersuchungen angewendet worden [Crobach M. et al. 1994]. Doch erst bei Verfügbarkeit von nationalen und internationalen Standards und entsprechenden Reagenzien zur Erstellung einheitlicher Standardkurven ist ein Vergleich der Methoden optimal möglich.

Es gibt zwei unterschiedliche Möglichkeiten, In vitro-Tests durchzuführen: einerseits Serum- Antikörper- Tests und andererseits zellmedierte Tests [Hamilton R. und Kagey-Sobotka A. 2000].

Zu Serum- Antikörper- Tests gehört der so genannte RAST:

#### **1.7.2.1 Radio- Allergo- Sorbent- Test (RAST)**

Das Patientenserum wird auf einer unlöslichen Matrix wie Kunststoff, Zellulosenitrat, Zellulose(papier) oder Agaroseplättchen inkubiert, auf der ein Allergen oder Allergenextrakt fixiert ist. Falls IgE-Antikörper im Serum vorhanden sind, können sie mit dem spezifischen Allergen einen Komplex bilden. Divers markierte Anti-IgE-Antikörper weisen nun das Vorhandensein der Komplexe nach. Als Marker dienen meist Radioisotope ( $^{125}\text{J}$ ) oder Enzyme wie die Meerrettichperoxidase oder alkalische Phosphatase. Anhand der Menge der gebundenen Marker oder des umgewandelten Produktes kann man das Ausmaß der IgE-Bindung erkennen. Vergleichswerte lassen nun den Grad der Allergenität ermitteln.

Eine Variante dieses Tests wird häufig angewandt und nennt sich RAST-Inhibition. Verschieden hohen Konzentrationen an Allergenen wird eine adäquate Menge an Patientenserum zugegeben. Wenn im Serum IgE-Antikörper vorhanden sind, können sie sich an die löslichen Allergene binden. Die IgE stehen dann nicht mehr für die Komplexbildung mit den matrix- gebundenen Allergenen zur Verfügung. Die Anzahl an Anti-IgE, die an die Allergene binden, ist indikativ für die Anzahl der sich im Patientenserum befindenden spezifischen IgE.

Diejenige Allergiekonzentration, die eine 50%ige Inhibition der maximalen IgE-Bindung auslöst, kann als Testergebnis genommen werden.

Die Steigung der Hemmkurve gibt zusätzlich Auskunft über den Allergengehalt des Extrakts, was bei der Standardisierung von Allergenextrakten nützlich ist.



### **1.7.2.2 Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)**

Der ELISA ist ein kompetitiver Enzymimmunoassay für die quantitative Bestimmung von Antigen-Antikörper-Wechselwirkungen [Kunicki T. 1979].

Man kann feststellen, ob und wie viele Antikörper ein Mensch gegen eine bestimmte Infektion oder im Rahmen einer Allergie gebildet hat [MedizInfo]. Der Test beruht auf einer Art Kettenreaktion. Zunächst werden isolierte Proteine an eine feste Phase gebunden und anschließend mit Serum des Patienten inkubiert. Sind Antikörper in der Probe vorhanden, so binden sie in einer Antigen-Antikörper-Reaktion an die immobilisierten Proteine. Nachgewiesen wird der gebundene Patientenantikörper durch Hinzufügen eines Immunglobulins gegen menschliche Antikörper (Antiimmunglobulin), an das ein Enzym gebunden ist. Dieses Enzym katalysiert seinerseits eine Reaktion, bei der z.B. ein Farbstoff entsteht, der kalorimetrisch erfasst wird [Voller und Bidwell 1986].

### **1.7.2.3 “Double-Immuno-Diffusion-Method of Ouchterlony”**

In eine Agarplatte werden ein zentraler und weitere periphere Einschnitte gebracht. In die peripheren so genannten „Cuts“ werden Sera gegeben, das Allergen wird im zentralen Cut platziert. Nun formt sich eine Präzipitatbande zwischen Zentrum (Allergen) und Umgebung (Sera), wenn IgG-Antikörper im jeweiligen Serum vorhanden sind [Pepsy und Jenkins 1965]. Nach WILSON kann abschließend die Evaluation erfolgen [Wilson et al. 1981].

### **1.7.2.4 Pharmacia CAP-System**

Mit diesem In vitro-Test ist es möglich, den Spiegel des zirkulierenden allergenspezifischen IgE sowohl im menschlichen Serum als auch im Plasma zu messen. Das bestimmte Allergen ist kovalent an das ImmunoCAP gebunden und reagiert mit dem spezifischen IgE im Patientenserum. Die unspezifischen IgE werden abgewaschen und enzymmarkierte Antikörper hinzugegeben, um einen Komplex zu bilden. Es erfolgt eine Inkubation, nach der ungebundenes Enzym-Anti-IgE

abgewaschen wird. Der gebundene Komplex wird mit einem Entwicklerreagenz inkubiert. Es kann anschließend das Signal gemessen werden. Die Höhe des Fluoreszenzwertes gibt adäquat die Höhe der Menge des spezifischen IgE an (Auswertung der Konzentrationen mittels Eichkurve) [Pharmacia Diagnostics 2002].

Mit diesem Test ist es möglich, raumtemperiertes Serum und Plasmaproben (EDTA oder Heparin) von venösem oder kapillarem Blut zu verwenden. Die Proben sollten nicht länger als eine Woche bei 2°C bis 8°C, für längere Lagerung bei -20°C aufbewahrt werden. Der Messbereich liegt zwischen 0,35 und 100 kU<sub>A</sub>/l. Probenverdünner zur Bestimmung von Werten über 100 kU<sub>A</sub>/l IgE ist die UniCAP IgE/ECP/Tryptase. Die IgE-Standards sind gegen die 2. Internationale Referenzpräparation 75/502 für Humanserum Immunglobulin E der Weltgesundheitsorganisation kalibriert (Tab.2).

Eine regelmäßige Qualitätskontrolle des Tests ist obligat [Plusa T. und Tomaszewicz-Fryca J. 1998].

**Tabelle 2: Evaluierung der spezifischen IgE-Klassen des CAP-Systems**

Spez. IgE-Klasse	Größer als oder gleich als	Niedriger als	Mengen der allergenspezifischen IgE-Antikörper
<b>6</b>	Cal-100	-	Sehr hoch
<b>5</b>	Cal-50	Cal-100	Sehr hoch
<b>4</b>	Cal-17,5	Cal-50	Sehr hoch
<b>3</b>	Cal-3,5	Cal-17,5	Hoch
<b>2</b>	Cal-0,7	Cal-3,5	Mittelgradig
<b>1</b>	Cal-0,35	Cal-0,7	Niedrig
<b>0</b>	-	Cal-0,35	Nicht nachweisbar

Die Gesamtzeit für diesen Test beträgt 2,5 Stunden.

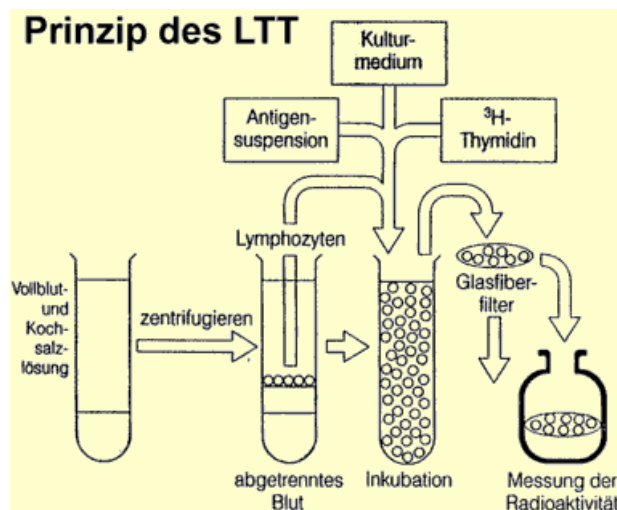
Die Ergebnisse werden als "positiv" oder "negativ" angegeben. Ein negatives Ergebnis zeigt das Nichtvorhandensein bzw. nicht messbare Konzentrationen des allergenspezifischen IgE [van Durme P. und Stevens E. 1989]. Das UniCAP 100 mit integrierter Software wurde automatisiert und druckt nach Abschluss des Tests die Ergebnisse aus. Somit sind die Handhabung und die Auswertung dieses Systems

unkompliziert. Jedes Labor sollte eigene Wertebereiche festlegen. Im Rahmen der Sensitivität liegt die Nachweisgrenze unter 0,35 kU<sub>A</sub>/l. Hinsichtlich der Spezifität ist eine Kreuzreaktivität mit anderen menschlichen Immunglobulinen bei physiologischen Konzentrationen von IgG, IgA, IgM und IgD nicht zu erwarten.

Zusammenfassend ist das CAP-System ein solide-Phase-Fluoroenzym-Immunoassay, der voll automatisiert wurde und für die Titration spezifischer IgE-Antikörper benutzt werden kann.

### 1.7.2.5 Lymphozyten-Transformations-Test (LTT)

Zu zellmedierten Testverfahren gehört der Lymphozyten-Transformations-Test. Diese Tests beruhen auf der Produktion von Mediatoren und Zytokinen, messengerRNAs für Zytokine (aus sensibilisierten Lymphozyten). Beim so genannten LTT wird das Vollblut des Patienten zentrifugiert und die Lymphozyten auf spezielle Art behandelt und markiert, um die Sensibilisierung mittels Radioaktivitätsmessungen bestimmen zu können [Hanson und Penny 1974].



**Abbildung 5: Übersicht über das Prinzip des sogenannten LTT [Baxevanis CN. et al. 1994]**

### 1.7.2.6 Zelluläre Allergenstimulationstests

Einige zelluläre In-vitro-Testsysteme zur Soforttyp-Allergiediagnostik nutzen den Nachweis von Mediatoren oder zellulären Antigenen, die bei erfolgreicher Aktivierung auf der Zelloberfläche erscheinen. Für diese „immunologische Reaktion im Reagenzglas“ werden durch Dextran-Sedimentation angereicherte Blutleukozyten mit Allergenen oder anderen Auslösern inkubiert. Die nach Allergen-Stimulation exprimierten Oberflächenmarker (CD63) bzw. die freigesetzten Mediatoren der basophilen Granulozyten (z.B. Histamin, Sulfido-Leukotriene) dienen als indirektes Maß für zellulär gebundenes IgE. Bei anderen Auslösern/Stimuli (bakterielles Peptid, fMLP, Komplement-Komponente C5a) spiegeln eine erfolgreiche Aktivierung und Mediatorfreisetzung die zelluläre, IgE-unabhängige Reaktionsbereitschaft der beteiligten Leukozyten wider, deren Bedeutung nur unzureichend geklärt ist. Bei Verwendung ansteigender Allergenkonzentration entstehen glockenförmige Dosis-Wirkungs-Kurven, deren Anstieg der zellulären Sensibilisierung entspricht und keine Beziehung zum Maximum der Kurven (zelluläre Reaktivität als diagnostisch in der Regel unerhebliches Maß der Signalübertragung) besitzt [MacGlashan D. 1993]. Allergenspezifische Mediator-Dosis-Wirkungs-Kurven sind inter- und intraindividuell höchst variabel. Ein Freisetzungstest mit nur einer Allergenkonzentration reicht daher zum indirekten Sensibilisierungsnachweis nicht aus. Zusätzlich muss berücksichtigt werden, dass die Basophilen von ungefähr 5 bis 15 % der Zellspender trotz vorhandenem zellulären IgE nicht in der Lage sind, nach IgE-vermittelter Stimulation Mediatoren freizusetzen (so genannte Non-Responder). Zelluläre Tests sind daher gegenüber einer direkten IgE-Bestimmung in ihrer Aussagekraft geschmälert. Sie sind methodisch aufwendig, nicht ohne weiteres für den Versand von Proben geeignet, kostspielig und anspruchsvoll in Durchführung und Interpretation. 1993 wurde ein Test unter dem Namen CAST (cellular allergen stimulation test - Buhlmann Laboratories, Allschwil, Switzerland) kommerzialisiert und in zahlreichen Studien untersucht [de Weck A. und Sanz M. 2003]. Für die allergologische Routinediagnostik ist sein Stellenwert gering, da ebenfalls keine umfangreiche Erforschung vorliegt und er nicht weltweit etabliert ist. Eine geeignete Indikation stellen Proben mit niedrigem Gesamt-IgE und erfolglosem sIgE-Nachweis trotz vermuteter Sensibilisierung oder seltene Allergene dar. Auf Grund der technischen Anforderung und der komplexen Interpretation sollten solche Tests nur von Ärzten

durchgeführt werden, die umfangreiche Erfahrungen mit spezialisierten zellulären Allergietests erworben haben.

#### **1.7.2.7 Bestimmung des Gesamt-IgE im Serum**

Anti-IgE-Antikörper werden an eine Festphase oder einen Träger gebunden. Für eine Stunde bis einen Tag wird die Serumprobe zur Bindung des IgE nun inkubiert. Nach Zugabe von markierten Anti-IgE-Antikörpern können die IgE-Einheiten pro ml (WHO, =2,4ng IgE/ml) bzw. die Absolutwerte quantifiziert werden. Der Nachteil dieses Verfahrens ist, dass es nicht allergenspezifisch ist. Hohe IgE-Konzentrationen treten auch bei anderen Erkrankungen, bspw. bei Parasitenbefall, auf. Das kann eine falsche Diagnose zur Folge haben [Staikuniene J., Japertiene L., Sakalauskas R. 2005].

#### **1.7.2.8 Bestimmung der Histaminfreisetzung aus Basophilen**

Beim Zusammentreffen des Allergens mit auf Basophilen gebundenen IgE wird eine bestimmte Menge Histamin freigesetzt, welches an Papier in speziellen Röhrchen bindet. Dieses Histamin wird gelöst und mit OPT an eine fluoreszierende Substanz gebunden. Eine semiquantitative Klassifizierung kann in Abhängigkeit derjenigen Allergenquantität erfolgen, welche eine signifikante Histaminfreisetzung bewirkt. Das Verfahren wird als In vitro-Provokation eines biologischen Prozesses bezeichnet. Es wird hierzu Frischblut benötigt. Nachteilig anzusehen ist, dass einige Individuen nicht auf Anti-IgE antworten, der Test hier keine eindeutige Diagnose erlaubt [Jeep S. et al. 1996].

#### **1.7.2.9 Bestimmung der Mediatoren aus eosinophilen Graulozyten**

Die eosinophilen Granulozyten sind in der Pathogenese allergischer Erkrankungen maßgeblich beteiligt und können in der Schleimhaut der oberen und unteren Atemwege von Allergikern bzw. in der Haut von Patienten mit atopischer Dermatitis vermehrt nachgewiesen werden. Die im Serum messbaren Mediatoren spiegeln nicht nur die Zahl der Eosinophilen, sondern auch deren Aktivierungszustand wider und

damit den Grad und aktuellen Zustand der entzündlichen Reaktion. Zahlreiche Untersuchungen beruhen auf der Bestimmung des „Eosinophil Cationic Protein“ (ECP) [Venge P. et al. 1999], die stark von der Präanalytik abhängt:

Während der Gerinnung von Vollblut (präanalytische Vorbereitung: 1 Stunde bei Raumtemperatur, d. h. 18-22°C) wird die Freisetzung von ECP aus den eosinophilen Granulozyten je nach deren Aktivierungszustand induziert. ECP kann ebenfalls aus anderen biologischen Flüssigkeiten (z.B. Serum, Lavage-Flüssigkeiten) mithilfe eines Immunoassays bestimmt werden (Serum-Referenzbereich für Erwachsene: < 15 µg/l, Pharmacia & Upjohn, Schweden, interne Dokumentation).

Die ECP-Bestimmung eignet sich auf Grund ihrer erheblichen interindividuellen Streuung nicht zur individuellen Vorhersage. Insofern ist mithilfe von erhöhten ECP-Spiegeln weder eine diagnostische Abklärung noch eine klare Zuordnung zu einem spezifischen Krankheitsbild möglich [Winther L. et al. 1999]. In einzelnen Fällen kann die ECP-Bestimmung der Verlaufskontrolle bei schweren atopischen Erkrankungen dienen, sofern andere Verlaufsparemeter nicht zur Verfügung stehen [Czech W. et al. 1992].

#### **1.7.2.10 „Schnelltests“**

Schnelltests sind wie der Name schon sagt, effizient und von kurzer Dauer in der Durchführung. Sie besitzen überaus gute ökonomische Aspekte und sind in geringem Aufwand sowie in minimalem Personalbedarf nicht zu übertreffen. Die Einfachheit dieser Art von Tests ermöglicht es, den Angestellten eines jeden Arztes, die unkomplizierte Handhabung durchzuführen, da sie dem nicht vorgebildeten Personal keinerlei hohen technischen Aufwand bietet.

##### **a) MAST CLA Atopy Panel 20**

(Bestimmung des spezifischen Serum-IgE)

Das CLA-Panel-System basiert auf einer Kopplung der Allergene an eine Festphase (Zellulosefäden). 20 verschiedene Allergene sind in einer Testkammer (*Pette*) nebeneinander angeordnet. Die Kombination von 10 inhalativen und 10 nutritiven Allergenen wurde bei CLA Panel 20 speziell zur Allergiediagnostik im Kindesalter

entwickelt [Pfannenstiel C. et al. 2001]. Die Bindung von spezifischen IgE-Antikörpern aus dem Patientenserum kann mittels Chemilumineszenz bestimmt werden [Lau S., Schulz G., Wahn U. 1999].

#### **b) RIDA AllergyScreen**

(Allergen-Panels zur Bestimmung des spezifischen IgE in Humanserum) von R-Biopharm AG

Dem Testprinzip hierbei liegt ein Immunblot zugrunde. Auf die Oberfläche von Nitrocellulosemembranen sind speziell für die In vitro-Diagnostik extrahierte Allergene gebunden, die in einem Kontakt-Plotsystem getestet werden (maximal 20 Allergene). Die Auswertung erfolgt mit dem RIDA X-Screen Reader, eine CCD-Kamera, die ein Photo des Teststreifens erstellt. Mittels der dazugehörigen Software kann das Ergebnis mit Standardkurven befundet werden.

#### **c) FastCheckPOC**

(Allergieschnelltest für 2x12 Allergene) von DST

Dieser neue visuelle Schnelltest erbringt das Ergebnis nach 30 Minuten. Die Bestimmung des spezifischen IgE aus dem Kapillarblut kann ohne technische Hilfsmittel durchgeführt werden [Kersten W. 1992]. Ziel des Tests ist, ein schnelles Screening zu ermöglichen, nicht die Diagnostik durch einen Spezialisten zu ersetzen. Aus diesem Grund sollten fraglich positive Ergebnisse, definiert als Pharmacia CAP-Klasse 1 nicht angezeigt werden [Zuberbier T. et al. 2004].

#### **d) Acti-Tip-System**

von HAL-Dexall

Dexall Biomedical Laboratories entwickelten vor einiger Zeit einen In vitro-Allergentest zur Determination des totalen Serum-IgE-Anteils und des allergenspezifischen IgE-Anteils [Hubscher T. 1990].

Das Acti-Tip-System ist ein Immunoassay, der auf einer enzymatischen Reaktion beruht und zur quantitativen Bestimmung sowohl des Gesamt-IgE, als auch des spezifischen IgE entwickelt wurde. Der Test kann somit photometrisch ausgewertet werden. 10 Mikroliter Serum reichen für die Messung aus. Das Gesamt-IgE kann in 45 Minuten, das spezifische IgE in 4 Stunden quantitativ ermittelt werden [Kersten W. und von Wahl P. 1992].

Der in der vorliegenden Arbeit analysierte Auro-Dex-Visual-Ens-Test wäre in diese Liste der Schnelltests einzufügen und besitzt fast die gleichen Vor- und Nachteile in der Handhabung und Exaktheit sowie in Sensitivität, Spezifität und Präzision wie die restlichen derartigen Screening-Tests.

### **1.7.3 Provokationstests:**

Wenn eine Sicherung der Diagnose nicht möglich ist, kann der Allergologe auf die so genannten Provokationstests zurückgreifen. An betreffenden Organen wird hierbei eine Allergenprovokation durchgeführt. Provokationstests haben eine sehr hohe Empfindlichkeit, da das Allergen direkt in Kontakt mit dem hyperreaktiven Organ gebracht wird. Durch eine ansteigende Konzentrationsreihe des Allergenextraktes kann der Grad der Sensibilisierung festgestellt werden. Es wird die Sofortreaktion beurteilt. Zwischen zwei aufeinander folgenden Provokationstests sollten mindestens ein bis zwei Wochen liegen. Bei vielen Patienten tritt sechs bis zwölf Stunden nach der Provokation eine Spätphasereaktion auf. Sie ist wichtig für die Beurteilung der Pathogenese allergischer Gewebsreaktionen und der Wirksamkeit von Therapieformen. Diese Tests können zur Erfolgskontrolle einer Therapie herangezogen werden [Ern G. und Fischbach R. 2002].

#### **1.7.3.1 bronchialer Provokationstest**

Der Patient muss die Allergenmoleküle inhalieren. Es kommt zur Mastzellaktivierung und Mediatorfreisetzung, was eine Bronchiokonstriktion nur wenige Minuten später



zur Folge hat. Festgehalten wird diejenige Konzentration, die zu einer 20%igen Zunahme des Atemwegswiderstandes geführt hat. Sowohl Spezifität als auch Sensitivität sind sehr hoch, was eine korrekte Diagnose erlaubt. Das Risiko anaphylaktischer Reaktionen ist jedoch groß. Deshalb ist der klinische Aufenthalt des Patienten während des Verfahrens essentiell [Host A. et al. 2003].

### **1.7.3.2 nasaler Provokationstest**

Bei Schimmelpilz- und Milbenallergenen tritt die Überempfindlichkeitsreaktion, die eine allergische Rhinokonjunktivitis zur Folge hat, auf. Insbesondere ist dies bei der so genannten Bäckerrhinitis (BK 4301) zu beobachten.

Ein Provokationstest stellt allerdings nur eine Alternative zu konventionellen Hauttests dar, wenn dieser nicht angewandt werden kann (beispielsweise bei Urticaria atopica) [Janeway C. 2001]. IgE-vermittelte Sofortreaktionen der Nasenschleimhaut sowie pseudoallergische Phänomene wie Aspirinunverträglichkeit werden unter strengen Indikationskriterien damit geprüft. Der Test darf erst vier Wochen nach einer Rhinosinusitis und acht Wochen nach einem operativen Eingriff durchgeführt werden, da die nasale Schleimhaut so lange zur Regeneration benötigt. Es gibt zahlreiche Karenzvorschriften für Medikamente sowie Kontraindikationen wie akute allergische und mikrobielle Entzündungen der Nasenschleimhaut und anderer "Schockorgane" (Lunge, Haut, Darm), des weiteren konsumierende Allgemeinerkrankungen Schwangerschaft und Einnahme von Immunsuppressiva [Grevers G. und Röcken M. 2001].

Das Verfahren läuft wie folgt ab:

Eine isotone, glycerinfreie mit nativen Stäuben oder Pulvern versetzte Standardlösung wird mittels Pump-Dosierspray am sitzenden Patienten, mittels einer Tuberkulinspritze am liegenden Patienten in Richtung der unteren Nasenmuschel appliziert. Der Patient soll vorher tief Inspirieren und den Atem anhalten, wenn dann zwei Sprühstöße (0,08 - 0,1ml) verabreicht werden. Der Arzt kann dem Patienten auch direkt 0,1ml des Allergens auf die untere Nasenmuschel träufeln, allerdings nur unter rhinoskopischer Kontrolle [Stenius B. et al. 1971]. Provozierte Symptome sind:

Juckreiz, wässrige Sekretion und nasale Obstruktion. Festgehalten wird diejenige Allergenkonzentration, ab der zwei der folgenden Parameter zutreffen: 5x Niesen, 5 ml Sekret, 50%ige Abnahme der PEFR. Dieser Test kann durch eine medikamentöse Therapie beeinflusst werden.

Dem Provokationstest voran muss eine Negativkontrolle mit einer allergenfreien Lösung erfolgen. Bestehen hier Zweifel, sollte nach Provokation eine Positivkontrolle mit einer wässrig gepufferten Histaminlösung (0,1mg/ml; 0,4% Phenol) durchgeführt werden. Nach einer Positivreaktion müssen mindestens 48 Stunden eingehalten werden, bevor eine nächste Provokation erfolgt. Durch Rhinoskopie, der aktiven anterioren Rhinomanometrie und einem Symptomscore kann die Reaktion beurteilt werden. Zytologische Untersuchungen unterstützen die Auswertung der Spätreaktion (Eosinophileneinstrom nach etwa 6 Stunden als Nachweis).

### **1.7.3.3 konjunktivaler Provokationstest**

Die allergische Sofortreaktion kann mit dem konjunktivalen Provokationstest (Ophthalmotest) nachgewiesen werden. Hier muss aufgrund der hohen Resorptionsfähigkeit der Konjunktiva mit einer mitunter gravierenden systemischen Reaktion gerechnet werden. Kontraindikationen sind akute und chronische Konjunktivitisformen sowie nichteingehaltene Karenzfristen für antiallergische Medikamente, ähnlich wie beim nasalen Provokationstest [Grevers G. und Röcken M. 2001].

Eine 1:10 verdünnte Pricklösung (oder die für nasal verwendete Lösung) wird in den Bindehautsack getropft. An dem anderen Auge wird die Negativkontrolle durchgeführt. Nach 10 bis 15 Minuten kann das Ergebnis abgelesen werden (positiv, wenn ++-Reaktion vorliegt). Der Tränenfluss auf Grund der Überempfindlichkeitsreaktion wird durch Spülung mit NaCl-Lösung, vasokonstriktischen und Antihistaminikum- oder Kortison-haltigen Augentropfen gestoppt. Auch hier ist durch eine zytologische Untersuchung des Eosinophileneinstroms in der konjunktivalen Spülflüssigkeit eine Spätreaktion nachweisbar [Janeway C. 2001].

Durch Auftropfen der Allergenmoleküle auf die Konjunktiva wird die Mediatorfreisetzung ausgelöst. Nach einigen Minuten treten Rötung, Schwellung, Augentränen und Juckreiz auf. Auch hier wird die Konzentration festgehalten, die zwei von drei Parametern auslöst: Rötung, Pruritus, Augentränen. Dieser einfach durchzuführende Provokationstest birgt nur geringe Risiken und kann in der Arztpraxis durchgeführt werden.

#### **1.7.3.4 Stich durch ein lebendes Insekt**

Fall der Patient keine zu große Angst hat, kann ein Insektenstich provoziert werden. Auswirkungen sind Juckreiz, Schwellung, Rötung und mitunter auch systemische Reaktionen, die klinisch beurteilt werden.

Das Verfahren kann zur Erfolgskontrolle einer Immuntherapie dienen [Grevers G. und Röcken M. 2001].

#### **1.7.4 Problematik und Risiken verschiedener Tests**

Schon frühzeitig sollte eine klare Richtung in der Entschlüsselung des Krankheitsbildes eines Patienten verschiedene Erkrankungen eingerahmt werden, damit so bald wie möglich eine optimale Behandlung erfolgen kann. Unklare Symptome wie Rhinokonjunktivitis oder Veränderungen des Hautbildes lassen oft mehrere Verdachtsdiagnosen zu. Der rasche Ausschluss oder die Bestätigung einer hyperreaktiven Erkrankung bringt den Hausarzt auf der Suche nach der tatsächlichen Diagnose ein großes Stück nach vorn. Das Risiko einer chronischen Entzündung mit Zerstörung von Gewebe kann verringert werden, die Prognosen bei frühzeitiger Erkennung der Krankheit sind entscheidend besser.

Für den Auro-Dex Visual-Ens Test muss der Patient nicht extra vorbereitet werden. Die meisten Patienten sind es gewohnt, sich ab und zu beim Hausarzt oder Internisten Blutabnehmen zu lassen. Eine geübte Hand lässt dieses relativ schnell und schmerzarm von statten gehen. Der Patient ist nach kürzester Zeit aus dem Behandlungszimmer entlassen und kann in Ruhe auf die Testergebnisse warten. Bei

den herkömmlichen Prick- bzw. Epikutantest muss der Patient eine mitunter schmerzhaft Reaktion seiner Haut ertragen. Das Vefahren ist für den Patienten traumatisierend und unangenehm. Der Epikutantest verhindert, dass der Patient in den kommenden zwei Tagen seiner gewohnten Körperpflege nachkommen kann, da das Duschen oder Baden mit dem Rückenpflaster untersagt ist.

Ein systemisches oder topisch appliziertes Antihistaminikum oder Steroid kann die urtikarielle Sofortreaktion unterdrücken.

Auch die Gefahr eines anaphylaktischen Schocks ist gleich null. Dieses Risiko darf bei den konventionellen Hauttests nicht außer Acht gelassen werden. Provokationstests sollten erst recht nur stationär unter ständiger Aufsicht des Patienten durchgeführt werden, da wie es der Name schon sagt, die allergische Reaktion (bspw. ein Asthmaanfall) sowie systemische Nebenwirkungen provoziert werden. Asthmatische Spätphasereaktionen können hier nicht ausgeschlossen werden.

Außerdem kann eine Reaktion durch medikamentöse Therapie unterdrückt werden

In vitro-Testverfahren sind eher langwierig und teuer. Konventionelle "Bluttests" können nur von speziell ausgebildetem Personal ausgewertet werden, zudem müssen verschiedene apparative Aufwände betrieben werden.

## 2. Ziele der Arbeit

Ziel der Promotionsstudie ist die wissenschaftlich begründete Bewertung des Auro-Dex Visual-Ens Tests. Dazu wird dieser Screening-Test in Bezug zum Pharmacia CAP-System auf Spezifität, Sensitivität sowie Präzision evaluiert.

Ein weiteres Ziel der Studie ist die Bewertung der Handhabung und Realisierung in der Praxis, die Reproduzierbarkeit und Verlässlichkeit sowie die Einreihung des Tests zu zahlreichen etablierten Tests, die auf dem Markt zu finden sind. Der Vergleich dazu, die Wertigkeit und die Präzision des Auro-Dex Visual-Ens Tests werden diskutiert.

Schlussfolgernd wurden statistisch detektiert:

- Spezifität
- Sensitivität
- Übereinstimmung/Präzision

### 3. Material und Methodik

Jeder Hausarzt hat mit dem Auro-Dex Visual-Ens-Screening-Test nach eingängiger Anamnese und gestellter Verdachtsdiagnose die Möglichkeit, diese abzuklären. Das Ergebnis ist einfach visuell von der Testkassette abzulesen. Durch ein immunochromatographisches Screening werden im Patientenserum spezifische IgE-Antikörper nachgewiesen. Anti-IgE-Antikörper sind mit Gold markiert und bei Komplexbildung mit den im Patientenserum vorkommenden IgE-Antikörper erfolgt die Wanderung entlang der Membran, bis das passende Allergen den Komplex fixiert. Dieser weist die an die im Serum vorhandenen IgE-Antikörper gebundenen Anti-IgE-Antikörper durch eine Farbreaktion nach, die deutlich eine rote Indikationslinie neben dem auf der Kassette aufgeführten Allergen bzw. Allergengemisch sichtbar macht. Durch die Positivkontrolle, die als erste Linie in der jeweiligen Spalte der Kassette bei jedem Patienten sichtbar werden muss, wird die Funktionstüchtigkeit des Tests sichergestellt.

Bevor ein Test zur routinemäßigen Anwendung herangezogen werden kann, sollte er auf verschiedene Parameter geprüft werden. Präzision, Reproduzierbarkeit, Sensitivität und Spezifität sowie Verlässlichkeit sind neben einem Vergleich mit anderen standardisierten Verfahren zu bewerten. Eine angemessene Zahl an Testergebnissen von erkrankten und gesunden Individuen ist für den klinischen Aspekt unabdingbar.

Der Auro-Dex-Visual-Ens-Test umfasst 24 ausschließlich inhalativ aufgenommene, unterschiedliche Allergene, die zu einem Teil nur in den Allergengruppen (6 mixes) enthalten sind und zum anderen Teil auf der Einzelallergen-Kassette (10 single allergens) vorkommen (Tab.3 und Tab.4). Somit kann mit diesem Screening-Test ein relativ großes Allergenspektrum vom Diagnostiker umrissen werden.

**Tabelle 3: Übersicht über saisonale Allergene der Mix-Kassetten; die *kursiv*-markierten Allergene befinden sich außerdem separat auf der Einzelallergen-Kassette**

Allergenquelle	Allergen/Bezeichnung
<b>Kräuterpollen-Mix (Spätsommer)</b>	
Ambrosia artemisiifolia (Traubenkraut)	Amb a 1-7 / W01
Plantago lanceolata (Spitzwegerich)	Pla l 1 / W09
Chenopodium ambrosioides (Gänsefuß)	Che a 1 / W10
Urtica dioica (Brennnessel)	Urt d 1 / W20
Parietaria judaica (Glaskraut)	Par j 1 / W21
<i>Artemisia vulgaris (Beifuß)</i>	<i>Art v 1, 2 / W06</i>
<b>Gräserpollen-Mix (Frühsommer)</b>	
<i>Dactylis glomerata (Knäuelgras)</i>	<i>Dac g 1-11 / G03</i>
<i>Secale cereale (Roggen)</i>	<i>Sec c 1 / G12</i>
<i>Phleum pratense (Lieschgras)</i>	<i>Phl p 1-6 / G06</i>
<b>Baumpollen-Mix (Frühjahr)</b>	
<i>Betula verrucosa (Birke)</i>	<i>Bet v 1-3 / T02</i>
Olea europaea (Olive)	Ole e 1 / T09
Corylus avelana (Hasel)	Cor a 1 / T04

**Tabelle 4: Übersicht über perenniale Allergene der Mix-Kassetten; die *kursiv*-markierten Allergene befinden sich außerdem separat auf der Einzelallergen-Kassette**

Allergenquelle	Allergen/Bezeichnung
<b>Milben/Hausstaub-Mix</b>	
<i>Dermatophagoides farinae</i>	<i>Der f 1-3 / D02</i>
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	<i>Der p 1-7 / D01</i>
Blattella germanica (Küchenschabe)	I Bla g / I06
<b>Haustiere-Mix</b>	
<i>Canis domesticus</i> (Hund)	<i>Can d 1, 2 / E05</i>
<i>Felis domesticus</i> (Katze)	<i>Fel d 1 / E01</i>
Equus caballus (Pferd)	Equ c 1 / E03
Anser anser (Gans)	Ans a 1 / E70
Anas platyrhynchos (Ente)	Ana p 1 / E86
<b>Schimmelpilze</b>	
<i>Alternaria alternata</i>	<i>Alt a 1, 10 / M06</i>
Aspergillus fumigatus	Asp f 1 / M03
Penicillium notatum	Pen n 1 / M01
Cladosporium herbarum	Cla h 1 / M02



### 3.1 Patientenkollektiv

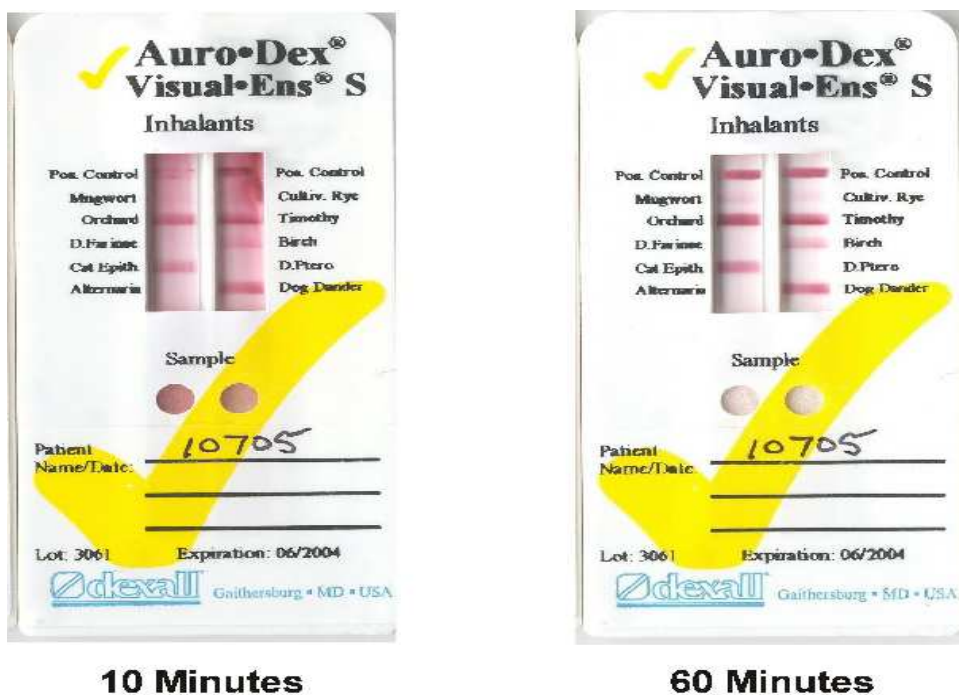
Untersucht wurden 112 Patienten in den Altersgruppen zwischen **4** und **69** Jahren, davon **38,2%** weibliche Patienten und **61,6%** männliche Patienten, von denen die Mehrzahl einen Verdacht auf Atopie bzw. bereits bestätigte Typ-1-Sensibilisierung aufwies. Die kleinere Anzahl an Patienten wurde als Nicht-Allergiker in die Studie einbezogen (12 Patienten). Bei den allergischen Patienten lagen entweder intermittierende obstruktive Atembeschwerden, rezidivierende rhinokonjunktivale Symptome oder in seltenen Fällen ekzematöse Hautbeschwerden bzw. eine Kombination der genannten Krankheitsbilder vor. Das Durchschnittsalter während der Untersuchung betrug **26** Jahre.

Die Serumproben wurden mit freundlicher Unterstützung und guter Zusammenarbeit aus dem Robert-Koch-Krankenhaus in Apolda von Herrn Prof. Dr. Zwacka (insgesamt 40 Patientensera) sowie aus der Universitätsklinik Jena von der Leiterin des biochemischen Labors Frau Dr. Hipler (insgesamt 72 Patientensera) bereitgestellt. Durch sie konnte diese Studie in Umfang und Präzision ermöglicht werden.

Der zu testende Patient wird mit dem Test nicht enorm psychisch oder physisch belastet. Eine professionell durchgeführte Blutentnahme ist weitaus weniger traumatisch als eine unangenehme Hautreizung auf Rücken oder Arm, auch weitaus weniger gefährlich, da anaphylaktische Reaktionen bei der Applikation von Allergenen in einen allergischen Organismus immer auftreten können. Die Patienten mussten keiner zusätzlichen Blutentnahme unterzogen werden. Die verwendeten Seren waren „Reste“, archivierte tiefgekühlte Proben, bzw. Mehrabnahmen im Rahmen von geplanten, regelrechten Untersuchungen. Somit wurde kein Patient extra für diese Studie belastet, weder psychisch noch physisch. Die häufigste positiv getestete allergische Reaktion war auf *Lieschgras* (44 Patienten), die häufigste negativ getestete Reaktion war sowohl auf *Alternaria*, als auch auf *Hund* (jeweils 90 Patienten).

### 3.2 praktische Vorgehensweise

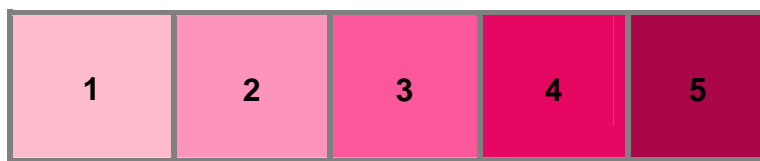
Nach Blutentnahme wurde aus dem zentrifugierten Blut das abgetrennte Serum in der Regel sofort verarbeitet oder für eine spätere Weiterverarbeitung bei  $-20^{\circ}\text{C}$  aufbewahrt. Auch mehrmaliges Einfrieren und Auftauen der Proben veränderten die Aussagefähigkeit und Zuverlässigkeit des Tests nicht. Der größte Teil der Patientensera wurde vor der Studie im Pharmacia Cap-System untersucht (siehe 1.7.2.4), um eine signifikante Typ 1-Sensibilisierung ( $\text{CAP} > 2$ ) zu eruieren. Bei dem anderen Teil der Patienten wurde zunächst die Allergisierung durch den Haut-Prick-Test ermittelt und anschließend mittels CAP-Bestimmung bestätigt. Anschließend wurde bei diesen Patienten der Grad der Übereinstimmung der beiden Verfahren für die einzelnen Allergene geprüft.



**Abbildung 5: Entwicklung der Färbung auf einer Testkassette zehn Minuten und sechzig Minuten nach der Serumapplikation; die roten Banden stellen die Anwesenheit von spezifischen IgE-Antikörpern im Patientenserum dar (Foto des Herstellers)**

Der Auro-Dex Visual-Ens Test ist einfach in der Handhabung. Es gibt keinen Arbeitsschritt, der so anspruchsvoll ist, dass er zu Fehlern im Testverlauf führen könnte. Die Testkassette ist mit der standardisierten Pipette (fixes Volumen von  $100\mu\text{l}$ ) aus der Verpackung herauszunehmen und mit der Pufferlösung auf Raumtemperatur zu bringen, denn die Tests sind in ihrer Vorratsboxen im

Kühlschrank (2 bis 8°C) zu lagern. Vor Beginn der Prozedur muss die Druckklemme nach Vorschrift an der Kopfseite der Kassette angebracht werden. Nun kann das genau dosierte Patientenserum in die dafür vorgesehenen Probenfenster (*sample well*) gegeben werden. Nach zwei bis vier Minuten, wenn in den Allergenfenstern bereits ein roter Diffusionsstrom erkennbar ist, wird ein Tropfen (50µl) Pufferlösung (*Chase/Enhancer Buffer Solution*) in die Probenfenster, in die bereits das Serum pipettiert wurde, getropft. Die Pufferlösung unterstützt den Transport der Antikörperkomplexe entlang der allergenbesetzten Membran. Nach 45 bis 60 Minuten kann das Testergebnis abgelesen werden (Abb. 6).



**Abbildung 6: Farbskala des Auro-Dex Visual-Ens Tests, Darstellung der unterschiedlichen Farbgraduierungen**

Rote Kontrolllinien sind auch dann positiv zu bewerten, wenn sie nur schwach (hell), aber immer vollständig, ausgebildet sind. Für die semiquantitative Beurteilung des Tests kann eine Farbskala verwendet werden, die extra für dieses System angefertigt und standardisiert worden ist (Abb. 5). Schattenhafte oder unvollständige Kontrolllinien sind als zweifelhaft (*doubtful*) zu werten. Erscheint keine rote Linie, außer den zwei dunkelroten Positivkontrolllinien (positiv Grad 5 laut Farbskala), ist der Test negativ, beim Patienten liegt also keine Allergie auf die im Test aufgeführten Allergene vor.

Wichtig ist, dass der Test nicht später als nach 75 Minuten abgelesen wird, da sowohl falsch positive als auch falsch negative Ergebnisse im Fenster erscheinen können.

Die Ergebnisse werden demnach klassifiziert als positiv oder negativ, und zusätzlich ist nach Herstellerangaben die oben abgebildete semi-quantitative Bestimmung des spezifischen IgE durch Vergleich der Banden mit der Farbskala möglich, aber die Möglichkeit der Korrelation dieser Graduierung mit der des CAP-Systems wurde in der vorliegenden Studie nicht untersucht.

### 3.3 Testprinzip

In dieser Studie wurden zwei verschiedene Allergen-Kassetten untersucht. Eine enthielt 10 individuelle Allergene, die andere 10 Allergen-Gemische (mit insgesamt 24 verschiedenen Allergenen), einschließlich *Gräsern*, *Bäumen*, *Kräutern*, *Tieren*, *Milben* und *Schimmelpilzen*. Zur Analyse der Spezifität und Sensitivität wurde der Auro Dex-Visual Ens Test für Einzel-Allergene und Allergen-Gemische mit dem Pharmacia CAP Test verglichen.

100 unabhängige Serumproben von Allergikern und 12 von gesunden Kontrollen wurden in dieser Studie ausgewertet.

Da zwei unterschiedliche Typen an Kassetten zur Verfügung standen, hatten gab es die Möglichkeit, diese nicht nur mit anderen Tests, sondern auch untereinander zu vergleichen (Abb.6) (Tab.5 und Tab.6) (vgl. 5.1).



Abbildung 6: Fotografie der Verpackung mit Anleitung, der zwei Testkassetten und der Pipette

**Tabelle 5: Die erste Kassette (MX) führt verschiedene Allergengemische auf:**

<i>Positivkontrolle</i>	<i>Positivkontrolle</i>
Gras-Mix (G03, G06, G12)	Staub/Milben-Mix (D01, D02, I06)
Baum-Mix (T02, T04, T09)	Tier-Mix I (E01, E05)
Kräuter-Mix I (W06, W09)	Tier-Mix II (E03, E70, E86)
Kräuter-Mix II (W01, W10)	Schimmelpilz-Mix I (M01, M06)
Kräuter-Mix III (W20, W21)	Schimmelpilz-Mix II (M02, M03)

Die beiden zuerst aufgeführten Positivkontrollen sind wichtig, um die Funktionalität des Tests und den Transport der Antikörperkomplexe entlang des Diffusionsgradienten auf der Membran zu überprüfen.

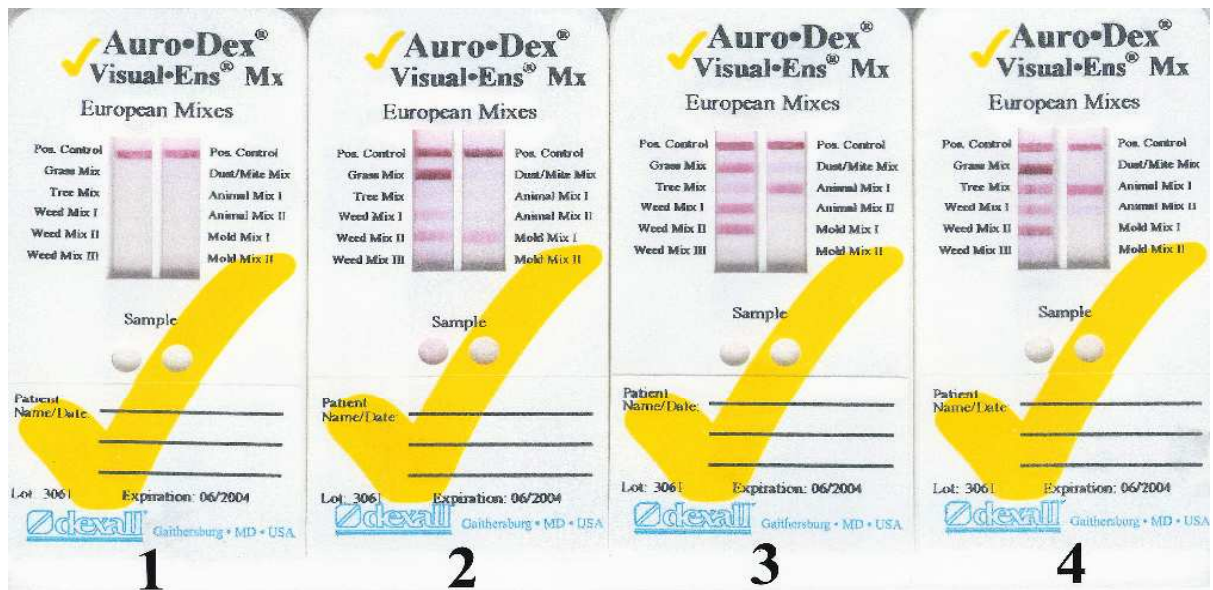
Um genauer eine Allergie bestimmen zu können, sind auf der zweiten Kassette (S) einzelne Inhalationsallergene aufgetragen (Tab.6):

**Tabelle 6: Die zweite Kassette (S) führt die einzelnen Inhalationsallergene auf**

<i>Positivkontrolle</i>	<i>Positivkontrolle</i>
Beifuß (W06)	Roggen (G12)
Knäuelgras (G03)	Lieschgras (G06)
D. farinae (D02)	Birke (T03)
Katze (E01)	D. pteronyssinus (D01)
Alternaria (M06)	Hund (E05)

Es gibt wieder die beiden Kontrolllinien für jede Spalte. Ihre Färbung sollte dunkelrot, entsprechend der Skalierungseinheit 5 der Farbtabelle sein (vgl. Abb.6).





**Abbildung 7: Vier Kassetten unterschiedlicher Patienten. Die roten Banden zeigen positive Ergebnisse für das jeweilige Allergen an.**

In Abbildung 7 sind deutlich die Unterschiede zwischen den einzelnen Patienten zu erkennen. Patient 1 ist nicht allergisch, nur die positiven Kontrolllinien sind zu sehen. Weiter gibt es keine Anzeichen von allergieanzeigenden rotschattierten Markierungen. Das ist anders bei Patient 2 bis 4. Sie sind Multiallergiker: Das Serum des Patienten 2 reagierte auf den Gras-Mix sehr stark (Farbskala positiv Grad 5), nicht so stark auf den Kräuter-Mix 2 und den Schimmelpilz-Mix 2 (jeweils positiv Grad 2) und nur sehr leicht auf den Kräuter-Mix 1 (positiv Grad 1). Die Kassette von Patient 3 zeigt deutlichere Markierungen bei Gras-Mix, Tier-Mix 1, Kräuter-Mix 1 sowie 2 in der Intensität Grad 3 und leichter bei Baum-Mix im Grad 1. Nicht eindeutig zu erkennen ist die Markierung bei Hausstaub/Milben-Mix. Hier kann die Option *doubtful* (zweifelhaft) gewählt werden. Es wird zur Realisierung der Statistik in der Graduierung, subjektiv, durchaus als positiv gewertet, allerdings mit Grad 0,5. Zweifelhafte Farbreaktionen sollten demnach vom Diagnostiker ebenfalls ernst genommen und geahndet werden.

Patient 4 ist stark allergisch auf den Gras-Mix (positiv Grad 5), ebenfalls deutlich allergisch auf Tier-Mix 1 und Kräuter-Mix 2 (jeweils positiv Grad 4) sowie Baum-Mix und Kräuter-Mix 1 (jeweils positiv Grad 3).

### 3.4 Statistik

Die Ergebnisse der wichtigsten inhalativen Allergene (*Beifuß*, *Knäuelgras*, *D. farinae*, *Katze*, *Alternaria*, *Roggen*, *Lieschgras*, *Birke*, *D. pteronyssinus*, *Hund*) wurden hinsichtlich Sensitivität, Spezifität und Präzision in Vier-Felder-Tafeln („Kreuztabellen“) statistisch verglichen.

Eine Signifikanz wurde nur ab CAP-Klassifikation 3 (Tab.7) erhoben. Werte, die darunter lagen (CAP-Klasse 1 und 2) wurden nur der Vollständigkeit aufgeführt, da sie keine präzise Typ 1-Sensibilisierung eruieren.

Ausgewähltes Beispiel:

**Tabelle 7: Kreuztabelle: Korrelation Dexall-Gras-Mix versus CAP-Lieschgras**

ANZAHL

		CAP Lieschgras		Gesamt
		neg	pos	
Auro-Dex Gras-Mix	neg	44	0	44
	pos	6	22	28
Gesamt		50	22	72

Verglichen wurde der Dexall-Gras-Mix mit den CAP-Werten der vorhandenen Einzelallergene, hier im Beispiel *Lieschgras*.

Als **pos** = positiv wurden alle positiven CAP-Werte (Grad 1 bis 6) und alle positiven Dexall-Werte (Grad 0,5 bis 5) gewertet. Richtig negativ sind 44 von insgesamt 44 Patienten, bei 0 falsch positiven Werten. Richtig positiv sind 22 von 28 Patienten erkannt worden, bei 6 falsch negativen. Das impliziert eine Sensitivität von 78,6% sowie eine Spezifität von 100%. Die Präzision zwischen CAP und Auro-Dex Visual-Ens beträgt bei 66 von 72 Übereinstimmungen 91,6%.

Insgesamt wurden **995** Datenvergleiche der Einzelallergene des Auro-Dex Visual-Ens Tests (positiv) versus CAP-System (Klasse > 2),

**995** Datenvergleiche der Testkassetten (Einzelellergene und Gemische) des Auro-Dex Visual-Ens Tests untereinander,

**995** Datenvergleiche der Gemische des Auro-Dex Visual-Ens Tests (positiv) versus Einzelallergene im CAP-System (Klasse > 2),

**734** Datenvergleiche des Auro-Dex Visual-Ens Tests (negativ) versus CAP-Klasse 1 und 2

sowie **647** Negativ-Vergleiche CAP 0 versus negativem Auro-Dex Visual-Ens Test bei den hier verwendeten Allergenen erhoben.

Die betrachteten und ausgewerteten Ergebnisse sollen an dieser Stelle genau definiert werden.

falsch negativ	-	negativer diagnostischer Test, obwohl der betreffende Patient an der fraglichen Krankheit leidet
falsch positiv	-	positiver diagnostischer Test, obwohl die untersuchte Person nicht an der fraglichen Krankheit leidet
richtig positiv	-	positiver diagnostischer Test, bei dem der betreffende Patient tatsächlich an der fraglichen Krankheit leidet
richtig negativ	-	negativer diagnostischer Test, bei dem die untersuchte Person tatsächlich nicht erkrankt ist

Aus diesen Werten ergeben sich die statistischen Parameter Spezifität und Sensitivität.



### **3.4.1 Spezifität**

Die Spezifität beschreibt die Eignung einer (Labor-)Methode, bei gesunden Probanden keine falsch positiven Werte zu erhalten. Sie errechnet sich als Anteil der richtig negativen Ergebnisse geteilt durch die – mit Vergleichsmethoden ermittelte – Gesamtzahl der Gesunden unter den Probanden [Urban und Fischer 2003].

### **3.4.2 Sensitivität**

Sensitivität ist die Fähigkeit eines diagnostischen Tests, Personen mit einer fraglichen Krankheit als solche zu erkennen. Die Sensitivität eines diagnostischen Tests wird angegeben als Quotient aus dem Anteil der Kranken mit positivem Test bezogen auf alle erkrankten Personen [Urban und Fischer 2003].

### **3.4.3 Präzision**

Die Präzision beschreibt die Übereinstimmung zwischen Auro-Dex Visual-Ens Test und CAP-System. In der Fehler- oder Ausgleichrechnung wird darunter die „innere Genauigkeit“ verstanden. Ein Allergen, positiv im CAP-Test (>Klasse 2), sollte einen positiven Auro-Dex Visual-Ens Test ergeben. Das Gleiche gilt für Negativ-Testungen. Die Präzision bezieht sich in dieser Studie auf die als Standard angesehenen CAP-Werte (Auro Dex-Visual Ens entsprechend CAP).

## 4. Resultate

An erster Stelle stand die Überprüfung der Übereinstimmung der Ergebnisse des Auro-Dex Visual-Ens Tests und den dazugehörigen CAP-Werten.

Die Ergebnisse des Auro-Dex Visual-Ens Tests wurden in aufsteigenden Graduierungen als positiv (Grad 1 bis 5, entsprechend des Sensibilisierungsgrades des Patienten) und als negativ klassifiziert. Für die Validierung der **Sensitivität** wurden die Auro-Dex-Visual-Ens-Ergebnisse ausgewertet, die eine CAP-Klasse größer 2 (3 bis 5) ergaben.

Die beste Übereinstimmung einer positiven CAP-Klasse ( $> 2$ ) und eines positiven Auro-Dex-Visual-Ens-Wertes stellte sich für *Lieschgras* (100%; Patientenanzahl  $n=44$ ) heraus, die geringste Korrelation lag bei *Hund* (54,5%;  $n= 11$ ) und *Alternaria* (63,6%;  $n=11$ ). Die letzten Ergebnisse könnten damit begründet werden, dass die niedrige Zahl an auszuwertenden Patienten zu der zu geringen Übereinstimmung führte und somit diese beiden Ergebnisse nur wenig aussagekräftig sind. Die anderen Übereinstimmungen schwankten um 78,6% (vgl. Abb.8).

Zur Validierung der **Spezifität** wurden die negativen Auro-Dex-Visual-Ens-Ergebnisse mit den CAP-Klassen = 0 verglichen. Die Übereinstimmungen hierbei lagen zwischen 97,7 und 100% ( $n=43$  bis  $n=90$ ) (vgl. Abb.10).

Im Fall der CAP-Klassen **1** und **2** wurden die Resultate nicht mit in die Statistik einbezogen, da eine Übereinstimmung zwischen Auro-Dex Visual-Ens Test und CAP-System bei diesen geringen Werten nicht signifikant ermittelt werden konnte (Abb.14). Der Auro-Dex-Visual-Ens-Test ist nicht geeignet, solche geringen Sensibilisierungen zu erfassen und ist auch nicht konzipiert worden, eine derart hohe Sensitivität zu erzielen. Die gewonnenen Ergebnisse wurden nur zur Vervollständigung aufgeführt.

Die **Sensitivität** der Werte der **Allergen-Gemische** wurden ebenfalls mit den CAP-Werten ( $CAP>2$ ) der entsprechenden Einzelallergene überprüft (vgl. Abb.12). Es wurden die gleichen Sera für beide Testkassetten verwendet. Somit konnten im Anschluss auch die beiden Kassetten untereinander verglichen werden. Die Übereinstimmungen variierten zwischen 73,9% bei *Dermatphagoides farinae* ( $n=23$ )

und 97,7% bei *Lieschgras* (n=44). Die Spezifität des Tests bezogen auf die Allergengemische konnte nicht bewertet werden, da nicht alle Einzelallergene aus dem Gemisch getestet werden konnten. Das bedeutet, dass bei einem Patienten, bei dem nicht alle Einzelallergene mittels CAP getestet wurden, ein positives Allergengemisch-Ergebnis im Auro-Dex Visual-Ens Test möglich ist, da dafür nicht CAP-getestete Einzelallergene, die im Gemisch vorhanden sind, verantwortlich sein können.

Um die niedrige Sensitivität der Testergebnisse für *Hund* und *Alternaria* zu analysieren, wurden die Einzelallergene mit dem entsprechenden *Tier-* bzw. *Schimmelpilz*-Gemisch verglichen.

Die Ergebnisse dabei sind wie folgt (vgl. Abb.12):

81,8% Sensitivität für das *Hund*-Allergen im Vergleich mit dem *Tier*-Gemisch1 und 90,9% für das *Alternaria*-Allergen im Vergleich mit dem *Schimmelpilz*-Gemisch1. Diese Resultate sprechen dafür, dass die Ergebnisse für die expliziten Beispiele besser ausfallen würden, wenn mehr Patientenseren zur Testung der Einzelallergene bereitstehen würden.

Die vorangegangenen Aussagen werden wie folgt zusammengefasst:

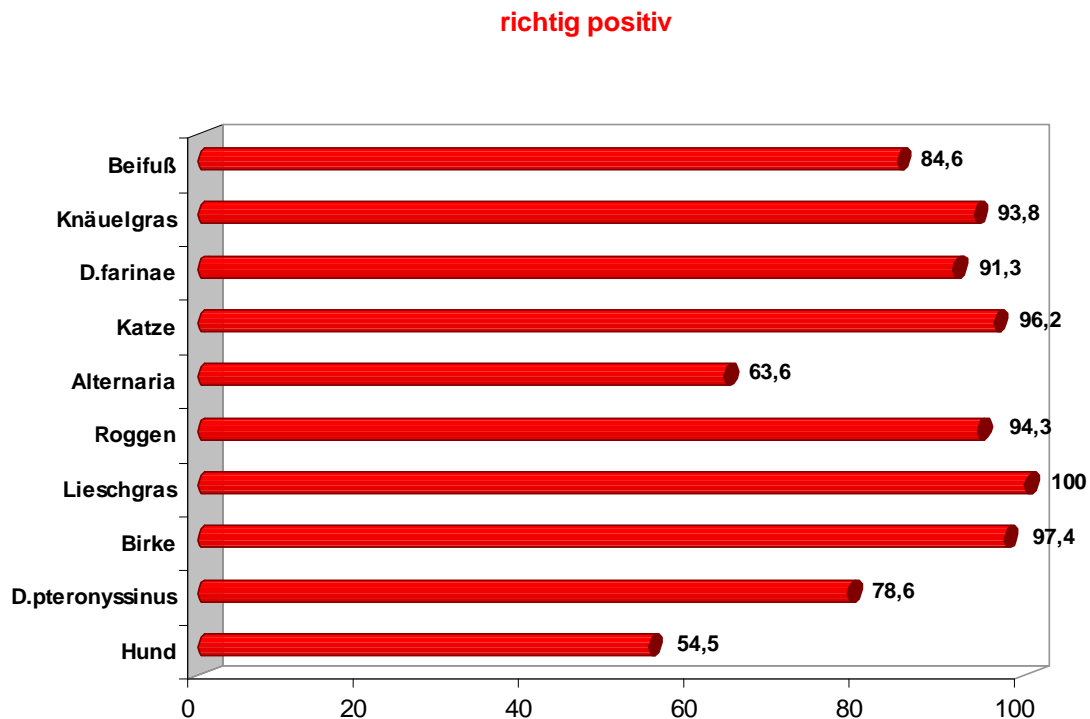
Bei einer CAP-Klasse größer 2 betrug die **Sensitivität** des Auro-Dex Visual-Ens Test für **Einzel-Allergene** 54,5% bis 100% (geringste Sensitivität für *Alternaria* (63,6%) und *Hund* (54,5%)) (vgl. Tab.8).

Für **Allergen-Gemische** betrug die Sensitivität des Auro-Dex Visual-Ens Test 78,6% bis 100%. Die darin enthaltenen Nachweise für *Alternaria* und *Hund* erreichten 90,9% und 81,8%.

Die **Spezifität** für alle Allergene in beiden Auro-Dex Visual-Ens Test Formaten, **Einzel-Allergene und Allergen-Gemische**, betrug 95,8% bis 100%.

In den CAP-Klassen drei bis fünf konnte eine **Übereinstimmung** mit dem Auro-Dex Visual-Ens Test von ca. 92% eruiert werden.

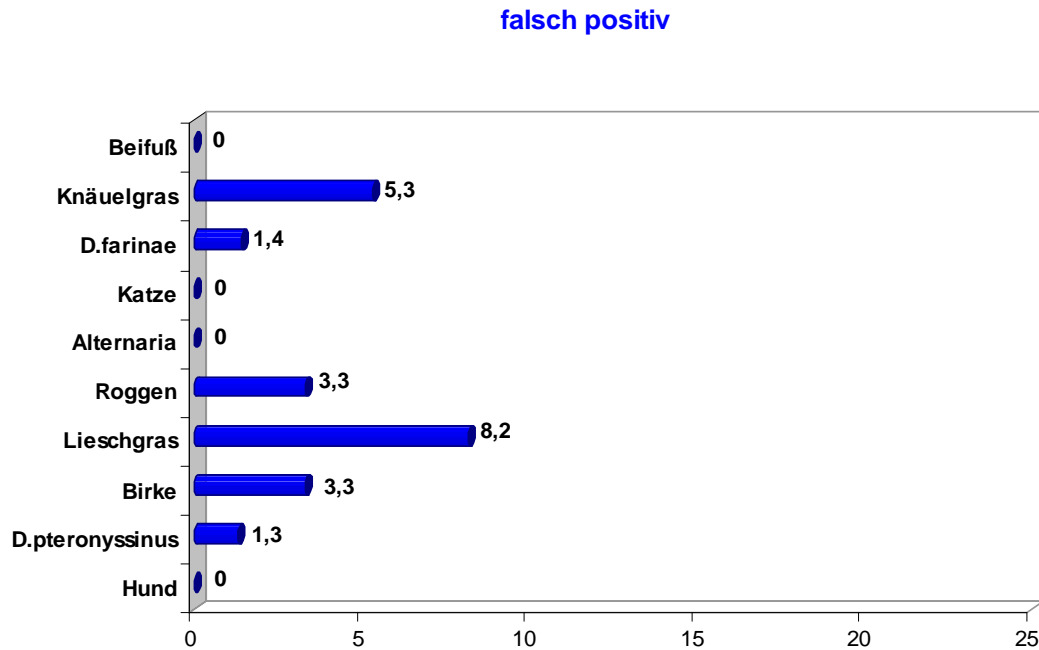
## 4.1 Diagramme



**Abbildung 8: richtige positive Werte der Einzelallergene im Auro-Dex Visual-Ens Test im Bezug zum CAP-Test in Prozent**

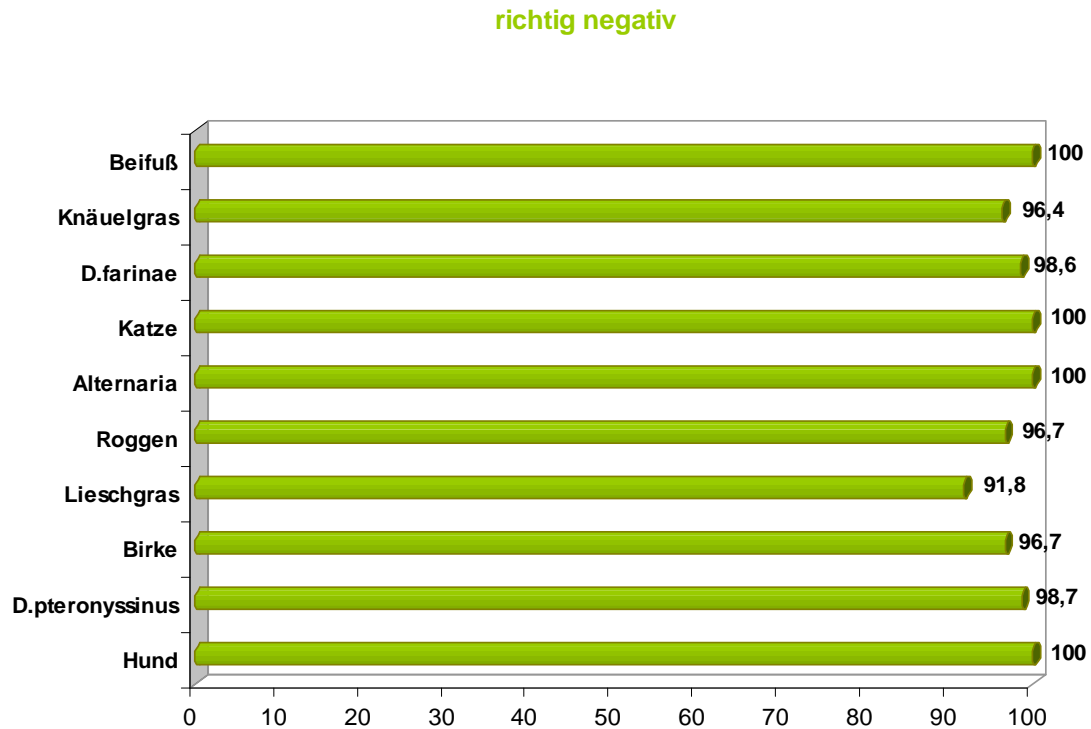
Die Sensitivität der richtig positiven Übereinstimmungen zwischen dem Auro-Dex Visual-Ens Test und dem Pharmacia CAP-Test konnte signifikant validiert werden (Abb. 8).

Während der Großteil der Allergene mit über 90% gemessen wurde (*Knäuelgras* 93,8%, *D. farinae* 91,3%, *Katze* 96,2%, *Roggen* 94,3%, *Lieschgras* 100%), betrugen die Ergebnisse für *Beifuß* 84,6% und für *D. pteronyssinus* 78,6%. Die Werte für *Alternaria* und *Hund* ergaben 63,6% sowie 54,5%. Die niedrige Übereinstimmung könnte mit der geringen Anzahl der getesteten Personen zu begründen sein (siehe 5. Diskussion). Bei den *Hunde*allergenen kann der Fehler auch in der Verwendung unterschiedlicher Allergene liegen (*Hundeepithelien* vorrangig in Deutschland, *Hundehaare* vorrangig in den USA verwendet).



**Abbildung 9: falsch positive Werte für die Einzelallergene im Auro-Dex Visual-Ens Test im Bezug zum CAP-Test in Prozent**

Ziel der Bewertung der falsch positiven Sensitivität ist es, möglichst niedrige Ergebnisse zu erzielen. Der Auro-Dex Visual-Ens Test sollte im besten Falle keine falsch positiven Ergebnisse anzeigen, da das dem nichtallergischen Patienten eine Erkrankung anzeigen würde. Annähernde Resultate erzielten *Beifuß*, *Katze*, *Alternaria* und *Hund* mit jeweils 0% an falsch positiven Werten. Ebenfalls entsprechend schnitt der Auro-Dex Visual-Ens Test bei den Milbenallergenen *D. pteronyssinus* mit 1,3% und *D. farinae* mit 1,4% ab. Weiterhin ergaben sich für *Birke* und *Roggen* jeweils 3,3%, für *Knäuelgras* 5,3% und für *Lieschgras* 8,2% (Abb. 9).



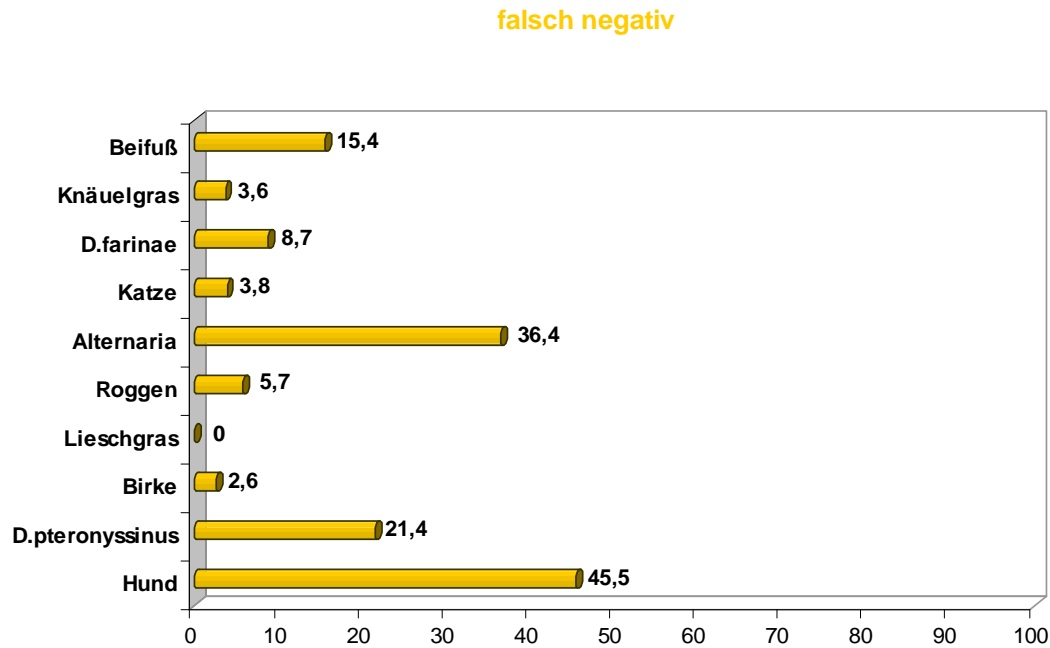
**Abbildung 10: richtig negative Werte der Einzelallergene im Auro-Dex Visual-Ens Test im Bezug zum CAP-Test in Prozent**

Richtig negative Ergebnisse sind mittels negativer Kontrollseren überprüft worden. Diese Seren stammen von Patienten, die im CAP-Test eindeutig negativ getestet wurden.

Alle Ergebnisse lagen im Bereich von über 90% bis 100% (Abb. 10):

*Beifuß*, *Katze*, *Alternaria* und *Hund* wurden mit 100% getestet.

*D. pteronyssinus* ergab 98,7%, *D.farinae* 98,6%, *Roggen* sowie *Birke* 96,7%, *Knäuelgras* 96,4% und *Lieschgras* 91,8%.



**Abbildung 11: falsch negative Werte der Einzelallergene im Auro-Dex Visual-Ens Test in Bezug zum CAP-Test in Prozent**

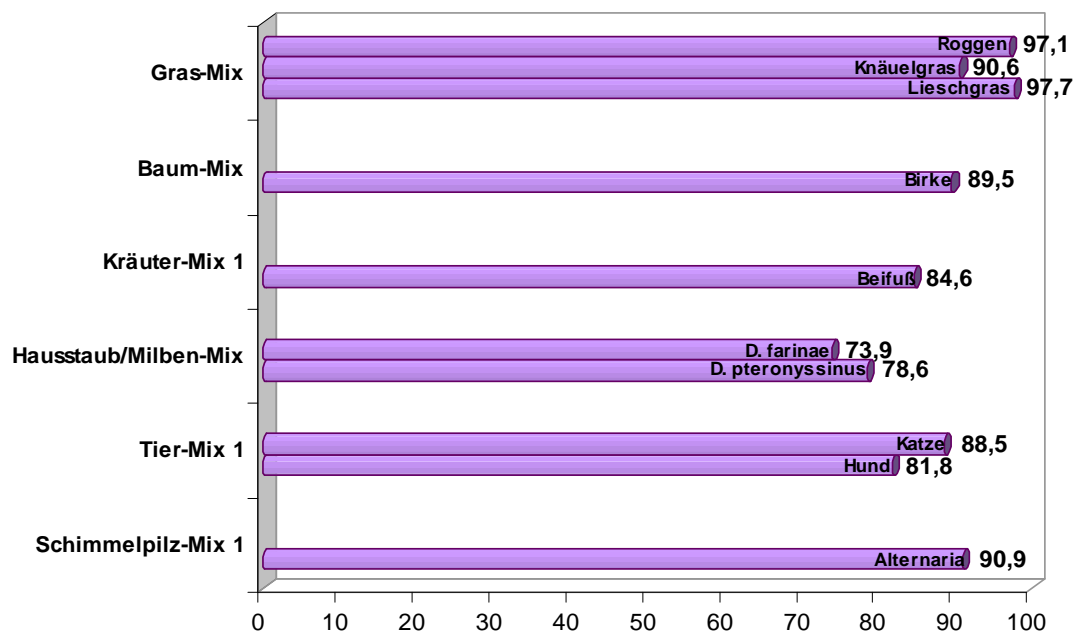
Falsch negative Ergebnisse bedeuten, dass ein allergischer Patient trotz manifester Erkrankung keine positiven Ergebnisse erhalten würden. Ein bestehendes klinisches Krankheitsbild würde nicht diagnostisch durch den Test bestätigt werden.

Die Werte ergaben sich hier relativ hoch:

*Alternaria* mit 36,4% und *Hund* mit 45,5% . Ebenso ergab *D. pteronyssinus* mit 21,4%. Die restlichen falsch negativen Ergebnisse sehen wie folgt aus:

*Beifuß* 15,4%, *D. farinae* 8,7%, *Roggen* 5,7%, *Knäuelgras* 3,6%, *Katze* 3,8%, *Birke* 2,6% und *Lieschgras* 0% (Abb.11).

## richtig positiv



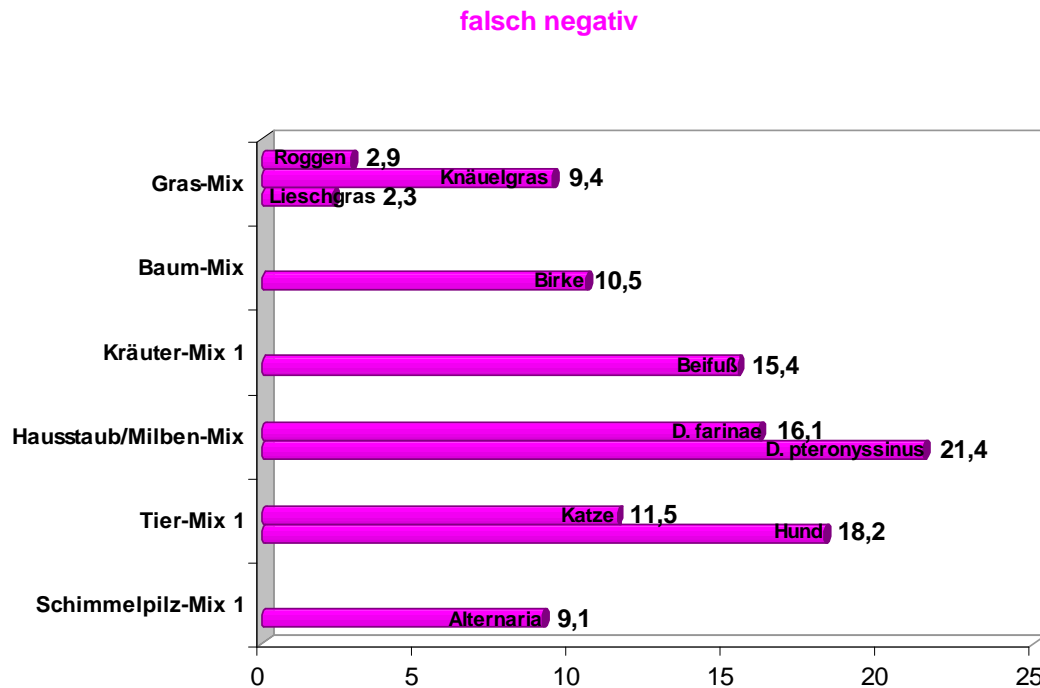
**Abbildung 12: richtig positive Werte der Allergengemische im Auro-Dex Visual-Ens Test im Bezug zum CAP-Test in Prozent**

Hier wurden die Allergen-Gemisch-Kassetten auf ihre Sensitivität getestet. Dafür wurden als positive gewertete Einzelallergene im Vergleich zum Mix-Test begutachtet. Es konnten nur vorhandene Allergene untersucht werden, d.h. nicht alle im Gemisch vorkommenden Einzelallergene sind spezifisch untersucht worden. Beim Baum-Gemisch konnte beispielsweise nur das Allergen *Birke* geprüft werden. Das Ergebnis eines Birkenpollenallergikers muss auf den Gemisch-Kassetten im Baum-Mix positiv validiert werden.

Die Resultate waren praxisrelevant zu bewerten (Abb. 12):

Im *Schimmelpilz-Mix 1* ergab *Alternaria* 90,9%, im *Tiermix 1* ergab Katze 88,5% und Hund 81,8%, im *Hausstaub/Milben-Mix* ergab *D. pteronyssinus* 78,6% und *D. farinae* 73,9%, im *Gras-Mix* ergab *Knäuelgras* 90,6%, *Lieschgras* 97,7% sowie *Roggen* 97,1%. Im *Kräuter-Mix 1* ergab *Beifuß* 84,6% und im *Baum-Mix* ergab *Birke* 89,5%. *Schimmelpilz-Mix 2*, *Kräutermix 2*, *Tier-Mix 2* konnte nicht validiert werden, da nicht genügend auf die spezifischen Einzelallergene allergischen Patienten zur Verfügung standen.





**Abbildung 13: falsch negative Werte der Allergengemische im Auro-Dex Visual-Ens Test im Bezug zum CAP-Test in Prozent**

Auch für die falsch negativen Ergebnisse wurde das gleiche Prinzip angewendet wie für die richtig positiven.

Es wurden die vorhandenen Allergiker mit der Gemisch-Testkassette überprüft.

Resultate waren folgende (Abb. 13):

Im Gras-Mix ergab *Roggen* 2,9%, *Knäuelgras* 9,4% und *Lieschgras* 2,3%.

Im Baum-Mix ergab *Birke* 10,5%.

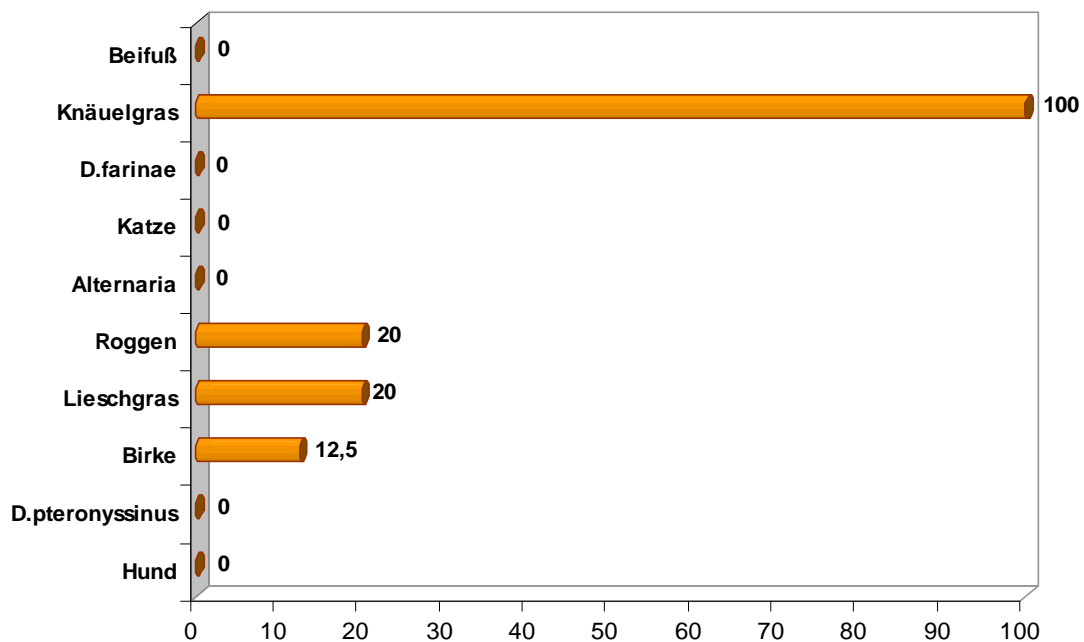
Im Kräuter-Mix 1 ergab *Beifuß* 15,4%.

Im Hausstaub/Milben-Mix ergab *D. farinae* 16,1 und *D. pteronyssinus* 21,4%, was das schlechteste Ergebnis darstellt.

Im Tier-Mix 1 ergab *Hund* 18,2% und *Katze* 11,5%.

Im Schimmelpilz-Mix 1 ergab *Alternaria* 9,1%.

richtig positiv bei CAP 1 und 2



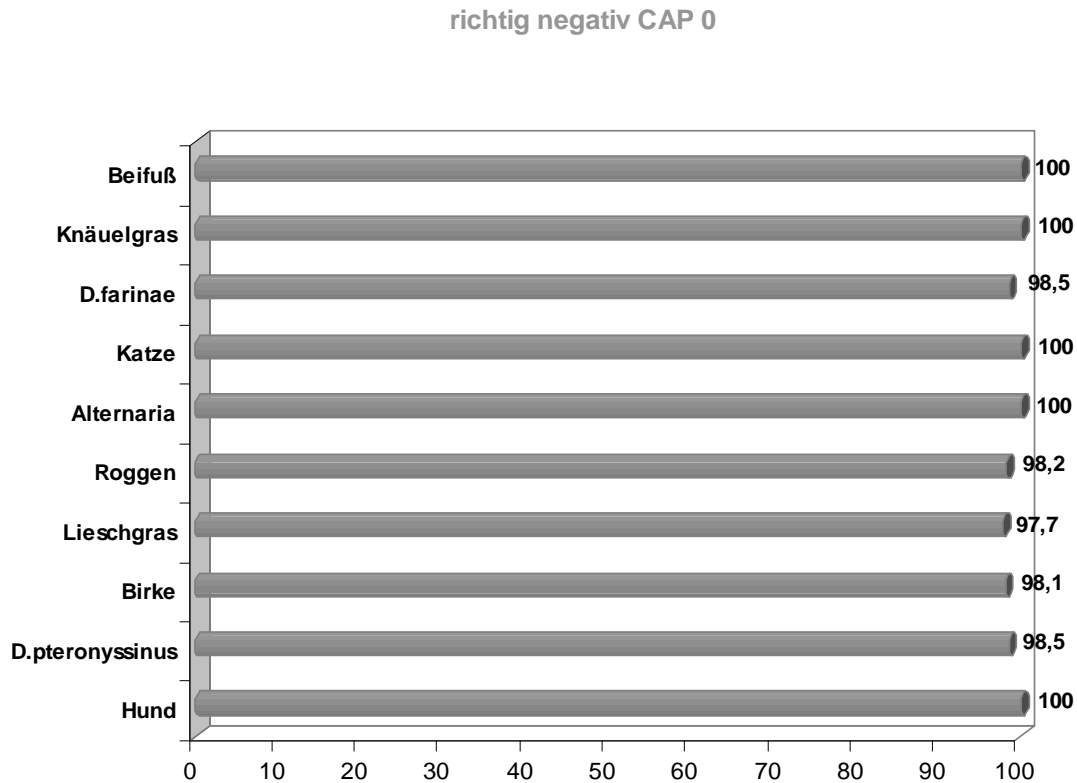
**Abbildung 14: richtig positive Werte der Einzelallergene im Auro-Dex Visual-Ens Test im Bezug zum CAP-Test mit den positiven CAP-Werten der Klasse 1 und 2 in Prozent**

Bisher wurden nur Vergleiche zwischen dem Auro-Dex Visual-Ens Test und den CAP-Werten größer der Klasse 2 gestellt. Um zu verdeutlichen, dass die Sensibilität darunter nicht ausreichend ist, wurden Allergiker der CAP-Klassen 1 und 2 im Auro-Dex Visual-Ens Test überprüft.

Die Resultate waren eindeutig nicht praxisrelevant. Als einziger Peak ragt in der Statistik *Knäuelgras* mit 100% heraus. Die restlichen Ergebnisse sind nicht aussagekräftig, somit nicht signifikant (Abb. 14):

*Lieschgras* (20%), *Roggen* (20%) und *Birke* (12,5%) ergaben geringe Werte.

*D. pteronyssinus*, *Hund*, *Beifuß*, *Katze*, *D. farinae* sowie *Alternaria* hatten keine messbaren richtig positiven Ergebnisse.



**Abbildung 15: richtig negative Werte der Einzelallergene im Auro-Dex Visual-Ens Test im Bezug zum CAP-Test mit dem CAP-Wert 0 in Prozent**

Für im CAP-System richtig negativ gemessene Ergebnisse wurde ebenfalls ein Vergleich zum Auro-Dex Visual-Ens Test aufgestellt. Der Auro-Dex Visual-Ens Test erreichte signifikante Resultate mit eindeutig negativer Aussage.

*Katze, Hund, Alternaria, Beifuß* und *Knäuelgras* erreichten 100%.

*D. farinae* wurde mit 98,5%, *Roggen* mit 98,2%, *Lieschgras* mit 97,7%, *Birke* mit 98,1% sowie *D. pteronyssinus* mit 98,5% gemessen (Abb. 15).

Im Folgenden sollen die Einzelallergene in Hinsicht auf Sensitivität (Tab.8), Spezifität (Tab.9) und Präzision (Tab.10) isoliert und genauer betrachtet werden. Es ist deutlich zu erkennen, dass die Allergene *Hund* und *Alternaria* nicht an die Signifikanz der anderen Allergene anschließen.

Wichtig ist generell die Betrachtung der häufigen Kreuzreaktionen von *Katze* und *Hund* (dies gilt auch für alle übrigen Epithelien), die auf die Albumine in den Epithelien zurückzuführen sind [Cabanas et al. 2000].

**Tabelle 8: Sensitivität; die Sensitivität bezieht sich hierbei auf die als Standard angesehenen CAP-Werte (Auro Dex-Visual Ens richtig positiv bei CAP>2)**

	<b>AuroDex – CAP</b>
<b>Beifuß</b>	84,6 %
<b>Knäuelgras</b>	93,8 %
<b>D. farinae</b>	91,3 %
<b>Katze</b>	96,2 %
<b>Alternaria</b>	63,6 %
<b>Roggen</b>	94,3 %
<b>Lieschgras</b>	100 %
<b>Birke</b>	97,4 %
<b>D. pteronyssinus</b>	78,6 %
<b>Hund</b>	54,5 %
<b>Baum-Mix</b>	89,5 %
<b>Gräser-Mix</b>	95,1 %
<b>Kräuter-Mix 1</b>	84,6 %
<b>Hausstaub/Milben-Mix</b>	76,3 %
<b>Tier-Mix 1</b>	85,2 %

Bei den Allergen-Gemischen kann die Sensitivität evaluiert werden, da alle

Parameter dafür vorhanden bzw. ermittelbar sind (Tab.8). Dieses gilt nicht für die Auswertung der Spezifität und Präzision aus den zuvor genannten Gründen.

**Tabelle 9: Spezifität; die Spezifität bezieht sich hierbei auf die als Standard angesehenen CAP-Werte (Auro Dex-Visual Ens richtig negativ bei CAP=0)**

	AuroDex – CAP
Beifuß	100 %
Knäuelgras	96,4 %
D. farinae	98,6 %
Katze	100 %
Alternaria	100 %
Roggen	96,7 %
Lieschgras	91,8 %
Birke	96,7 %
D. pteronyssinus	98,7 %
Hund	100 %

Die Spezifität des Auro-Dex Visual-Ens Tests für die Allergene *Hund* und *Alternaria* hätten sich sicherlich durch eine Erhöhung der Serenanzahl steigern lassen, zumal die Übereinstimmung zwischen Einzelallergen-Werten und Gemisch-Werten hoch ist.

Die Spezifität der Allergen-Gemische ist nicht zu eruieren, da nicht alle in den Gemischen enthaltenen Allergene zur Verfügung standen (es gibt keine richtig positiven Werte). Dennoch ist sie anhand der Spezifität der Einzelallergene nachzuvollziehen (Tab.9).

**Tabelle 10: Präzision; die Präzision bezieht sich hierbei auf die als Standard angesehenen CAP-Werte (Auro Dex-Visual Ens entsprechend CAP)**

	AuroDex – CAP
Beifuß	92,3 %
Knäuelgras	95,1 %
D. farinae	94,9 %
Katze	98,1 %
Alternaria	81,8 %
Roggen	95,5 %
Lieschgras	95,9 %
Birke	97,1 %
D. pteronyssinus	88,7 %
Hund	77,3 %

Die Präzision wurde durch die Erstellung der Mittelwerte zwischen den Übereinstimmungen (richtig positive und richtig negative Werte) des Auro-Dex Visual-Ens Tests mit dem Pharmacia CAP-Test (Tab.10) ermittelt. Auch bei dieser Auflistung gibt es keine Werte für die Allergen-Gemische aus dem oben genannten Grund.

## 5. Diskussion

Das Problem vieler Screening-Tests besteht darin, dass sie nicht hinreichend evaluiert sind. Ein positiver Screening-Test besagt lediglich, dass eine Sensibilisierung gegen eines oder mehrerer Allergene vorliegt. Bei Verwendung von semiquantitativen Tests wie dem Auro-Dex Visual-Ens-Test sollte davon ausgegangen werden, dass ein negatives Ergebnis eine Sensibilisierung nicht sicher ausschließt. Grundsätzlich ist das Screening zu begrüßen, wenn damit die Rationalisierung der Diagnostik erreicht wird, jedoch sollte der Screening-Charakter dieser Untersuchung deutlich sein.

Generell muss aber der Stellenwert solcher Screening-Tests in größeren Studien evaluiert werden.

Der Auro-Dex Visual-Ens Test ist einfach an jeder Klinik oder in jeder niedergelassenen Praxis durchzuführen. Das einzige Equipment, das vorhanden sein muss, ist eine Zentrifuge zur Abtrennung der zellulären Blutbestandteile.

Die Kosten für den Auro-Dex Visual-Ens Test sind auf ein einzelnes Allergen bezogen relativ gering. Während eine Einzelallergen-CAP-Testung im biochemischen Labor in der kassenärztlichen Abrechnung mit 7,70€ abrechenbar ist, ist eine Kassette des Auro-Visual Ens-Tests mit 17,90€ (für 10 Allergene bzw. 10 Allergen-Gemische) abzurechnen.

Zu beachten ist außerdem, dass der Auro-Dex Visual-Ens Test mit geringem Personal- und Zeitaufwand durchgeführt werden kann und dass Pipette und Trägerlösung bereits im Paket enthalten sind.

Der Einsatz der beiden verglichenen Tests soll zudem in unterschiedlichen Institutionen stattfinden. Der CAP-Test erfordert einen speziellen Geräteaufwand und ist labormedizinischen Laboren und den Kliniken vorbehalten. Der Auro-Dex Visual-Ens Test kann von einer eingewiesenen Person in jeder Praxis eines Allgemeinmediziners oder Dermatologen durchgeführt werden.

Sowohl mit dem Einzelallergen- als auch mit dem Gemisch-Test konnten zuverlässige Ergebnisse erzielt werden, wenn die entsprechenden CAP-Resultate größer der Klasse 2 waren.

Eine Ausnahme war das *Hund*-Einzelallergen, das eine sehr niedrige Korrelation zwischen Auro-Dex Visual-Ens Test und CAP-Test aufwies. Das könnte zum einen an der Verwendung unterschiedlicher Allergene (Hundehaare vs. Hundepithelien) liegen, zum anderen wurden nur wenige Patienten getestet, so dass die Ergebnisse nicht als signifikant gewertet werden können. Allerdings ist schon in vorangegangenen Studien mit anderen Tests eine deutlich erniedrigte Sensitivität und Spezifität bei Tierallergenen festzustellen. A. FERGUSON et al. stellte Korrelationen zwischen dem RAST und dem Prick-Test an und kam zu dem Ergebnis, dass auch bei diesen anerkannten, standardisierten Verfahren nur eine niedrige Übereinstimmung zu eruieren ist: 53 bis 76% positive Übereinstimmung (bei 88 bis 95% negativen Übereinstimmungen) [Ferguson A. und Murray A. 1983].

Die niedrige Signifikanz von *Alternaria* im Auro-Dex Visual-Ens Test ist auf die geringe Anzahl *Alternaria*-getesteter Patienten zurückzuführen.

Im Rahmen der Anwendungsstudie des Auro-Dex-Visual-Ens Tests wurden 112 Seren von Allergikern und Nichtallergikern retrospektiv befundet und mit den zuvor erhobenen Ergebnissen des Pharmacia CAP-Systems verglichen.

Dabei wurden seltene Allergene der Gemisch-Kassette wie *Hasel*, *Olive* (jeweils enthalten im *Baum-Mix*), *Traubenkraut*, *Spitzwegerich*, *Gänsefuß*, *Brennnessel*, *Glaskraut* (jeweils enthalten im *Kräuter-Mix*), *Penicillium notatum*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus fumigatus* (jeweils enthalten im *Schimmelpilz-Mix*), *Pferd*, *Gänsefedern*, *Entenfedern* (jeweils enthalten im *Tier-Mix*) und *Küchenschabe* (enthalten im *Hausstaub/Milben-Mix*) nicht in die Auswertung einbezogen, da das vorhandene Zahlenmaterial nicht die erforderliche Signifikanz für einen sinnvollen Vergleich aufwies (weniger als 11 nachgewiesene Sensibilisierungen).

Im Vergleich zeigte sich eine gute Empfindlichkeit des Systems, das bei den Pollenallergenen signifikanter ist als bei den Tieren oder Schimmelpilzen. Die hohe Empfindlichkeit ist sicherlich darauf zurückzuführen, dass die Allergene auf der Membran keiner kovalenten Kopplung unterworfen sind, sie also nativ verwendet werden.

Als perspektivische Verbesserung wäre zu empfehlen, die Allergene ähnlich der Gemisch-Kassette anzuordnen und zu listen, um die Benutzerfreundlichkeit zu verbessern. Ein schnelleres Erfassen des Testergebnisses wäre möglich, wenn die einzelnen Kategorien wie *Gräser*, *Kräuter*, *Bäume*, *Tiere* und *Schimmelpilze* geordnet untereinander stehen würden (Tab.11):

**Tabelle 11: Vorschlag einer geänderten Anordnung der Einzelallergene zur verbesserten Übersichtlichkeit**

<i>Positivkontrolle</i>	<i>Positivkontrolle</i>
Knäuelgras	Katze
Lieschgras	Hund
Roggen	<i>D. pteronyssinus</i>
Birke	<i>D. farinae</i>
Beifuß	<i>Alternaria</i>

Hinzuzufügen ist, dass, falls es zur Einführung des Auro-Dex Visual-Ens Tests in den deutschen Praxisalltag kommt, sowohl bei der Allergengemisch-Kassette, als auch bei der Einzelallergen-Kassette auf hier in Deutschland gehäuft vorkommende Allergene Rücksicht genommen werden sollte. In hiesigen Gefilden sind z.B. die *Ambrosia* (*Traubenkraut*), das *Glaskraut* und auch die *Olive* sehr selten. Andere Allergene kommen in Deutschland weitaus häufiger vor: *Erle*, *Lolium perenne* (*Lolchgras*), *Weizen* etc.



### 5.1 Vergleich der Signifikanzwerte der Testkassetten des Auro Dex-Visual Ens Tests untereinander (Einzelallergen vs. Gemisch)

Bei der Korrelation der beiden Kassetten der Firma Dexall wurde festgestellt, dass diese in Näherung zueinander liegen. Einen auf Roggen allergischen Patienten (detektiert mittels CAP-Klasse >2) „erkannte“ sowohl der Einzelallergen-Test (*Roggen* = 94,3%) als auch der Gemisch-Test (*Gras-Mix* = 97,1%). Dabei war zu beachten, dass nur richtig positive und richtig negative Werte eruiert werden konnten, da nicht alle im Gemisch enthaltenen Allergene zur Testung zur Verfügung standen. Ein im *Kräuter-Gemisch* positiver Patient ist nicht zwingend auf *Beifuß* allergisch (weitere Möglichkeiten: *Brennnessel*, *Spitzwegerich*, *Traubenkraut*, *Gänsefuß*, *Glaskraut*); ergo gibt es in dieser Studie keine falsch positiven bzw. richtig negativen Ergebnisse innerhalb der Auswertung der Gemisch-Kassetten.

Ein auf *Birke* allergischer Patient muss eine deutliche Anzeige im *Baum-Gemisch* aufweisen. Dennoch kann ein auf Birke nicht allergischer Patient trotzdem im *Baum-Gemisch* positiv ermittelt werden, falls er auf das nicht betrachtete Allergen *Hasel* oder *Olive* allergisch reagiert.

Bemerkenswert ist, dass die Gemisch-Kassette in der Detektion der Allergene *Hund* und *Alternaria*, die im Einzelallergen-Test schlechter zu eruieren waren, sowohl verlässlicher bzw. sensitiver war als auch weniger falsch negative Ergebnisse aufzeigte (Tab. 12):

**Tabelle 12: Vergleich der Messwerte der Gemisch- und Einzelallergen-Kassette**

<b>richtig positiv</b>	<b>Gemisch</b>	<b>Einzelallergen</b>
Hund	81,8 %	54,5 %
Alternaria	90,9 %	63,6 %

<b>falsch negativ</b>	<b>Gemisch</b>	<b>Einzelallergen</b>
Hund	18,2 %	45,5 %
Alternaria	9,1 %	36,4 %

Das allgemeine Problem jeglicher Gemischuntersuchungen ist, wie bereits erwähnt, die Kreuzreaktion. Damit sind ohnehin keine Einzelallergene nachweisbar.

## 5.2 Validierung der Tests

Nun gilt es, verschiedene Tests miteinander zu vergleichen. Aber in wie weit ist dieses möglich? Auf dem Mainzer Allergie-Workshop 2003 wurde darauf hingewiesen, dass sich In vitro-Tests zwar miteinander vergleichen lassen, dass es aber dennoch ausgeprägte Streuungen der Werte gleicher Allergene in verschiedenen Tests gab [15. Mainzer Workshop 2003].

PD Dr. Jörg KLEINE-TEBBE prüfte Korrelationen zwischen Dr. FOOKE's **Allerg-O-Liq** und den **Pharmacia CAP-System** auf die Allergene *Beifuss*, *Lieschgras*, *Birke Katze*, *Hund*, *Hausstaubmilbe* sowie verschiedene Nahrungsmittelallergene. Er merkte an: "Identische quantitative Einheiten bedeuten also nicht immer absolut identische Ergebnisse.". Dies bestätigen auch die Ergebnisse dieser Studie. KLEINE-TEBBE sieht den Grund dafür in den verwendeten Allergenen: "Allgemein zeigten Allergenquellen mit dominanten Majorallergenen [...] bessere Übereinstimmungen als Allergenmischungen mit komplexer Matrix [...]". [Kleine-Tebbe J. et al. 2003].

Die unterschiedlichen Ergebnisse liegen einerseits an dem nicht stattfindenden Abgleich zwischen den unterschiedlichen In vitro-Tests, die derzeit zahlreich auf dem Markt vorhanden sind und andererseits an der unterschiedlichen Sensibilität mit der die Tests reagieren. Der Pharmacia CAP-Test spricht bereits auf geringe Allergenität an, wobei der Visual-Ens-Test erst positive Ergebnisse liefert, wenn der CAP-Test die Klasse 3 ermittelt.

Trotzdem ist diese scheinbar niedrigere Sensibilität durchaus ausreichend, da ein Screeningtest keinesfalls die standardisierte Diagnostik ersetzen, sondern allenfalls erleichtern und bereichern soll.

Vor allem RAST, CAP, Prick und Provokationstests wurden von zahlreichen Autoren in allen Varianten und Kombinationen miteinander korreliert. Es gibt natürlich Abweichungen und Kriterien, die nicht von jedem Test in gleichem Maße erbracht werden kann.

Im folgenden Abschnitt werden ausgewählte Tests im Überblick aufgelistet und ein kurzes Statement über Ergebnisse und Wertung umrissen.

### 5.2.1 Validierung des Prick-Tests

Nach heutigen Erkenntnissen ist der Prick-Test dem RAST In vitro-Test vorzuziehen, da er eine höhere Aussagefähigkeit besitzt [Ferguson A. und Murray A. 1983]. REDDY et al. ermittelten eine Übereinstimmung zwischen RAST und Prick von 63% bei *Baumpollen*, in Bezug auf *Gräser* 88% [Reddy P. et al. 1977]. Beim Vergleich von Prick-Test und nasalen Provokationen erhielten sie ein Ergebnis von 97% negativer Übereinstimmungen und 89% positiver Übereinstimmungen [Kersten W. 2003]. KERSTEN korrelierte weiterhin den Prick-Test mit dem AllergyScreen und dem CAP-System und konnte Folgendes resultieren (Tab.13):

**Tabelle 13: tabellarische Abbildung des Vergleichs von Prick-, CAP- und AllergyScreen-Test, Angaben in Prozent [Kersten W. 2003]**

Parameter	Prick-Test vs. AllergyScreen	Prick- Test vs. CAP	CAP vs. AllergyScreen
<b>Sensibilität</b>	95,1 %	95,8 %	84,3 %
<b>Spezifität</b>	80,2 %	76,1 %	95,0 %
<b>Übereinstimmung</b>	88,3 %	87,5 %	90,6 %

Eine Studie über Testverfahren bei *Latexallergien* von BLANCO, CARILLO, ORTEGA [Blanco C., Carrillo T., Ortega N. 1998] ergab, dass in diesem Fall der SPT (skin prick test, Prick-Test) eine Sensitivität von 90 bis 98% und eine Spezifität von 100% aufwies.

Der Skin-Prick-Test hat bei richtiger Anwendung, die einen ausgebildeten und geübten Durchführenden voraussetzt, gegenüber der Bestimmung des IgE-Spiegels und dem Phadiatop-Test (Atopy Panel Test) den besten positiven Vorhersagewert und höchste Effizienz, um respiratorische atopische Erkrankungen zu diagnostizieren [Tschopp J. et al. 1998]. Allerdings schränkt die Qualität und Standardisierung der benutzten Allergenextrakte die Testreliabilität ein [Position paper 1993].

### 5.2.2 Validierung des RAST

Seit Einführung des RAST zur Detektion der spezifischen IgE-Antikörper durch JOHANSSON (1967) und WIDE, BENNICH und JOHANSSON (1967) sind zahlreiche Korrelationen zwischen RAST und Prick-Test sowie Provokationstests gemacht worden [Aas und Johansson 1971] [Havnen et al. 1974] [Norman, Lichtenstein, Ishizaka 1973].

Die Übereinstimmung des RAST mit anderen Tests ist in den meisten Fällen sehr hoch [Berg und Johansson 1974].

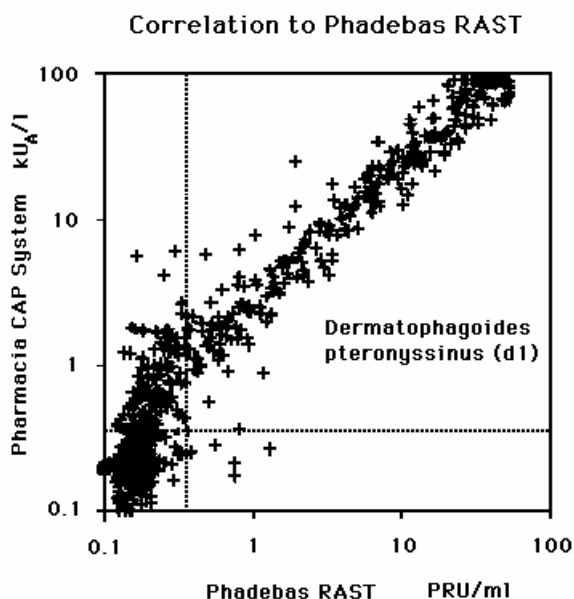
Eine gute Korrelation existiert also zwischen einem sehr positiven Pricktest und dem spezifischen IgE-Assay RAST. Auch ein negativer Pricktest korreliert mit einem negativen RAST [Nelson HS. 1983] [Pope A. et al. 1993].

Auch PEPYS et al. untersuchten die Präzision des RAST versus In vivo-Tests und kamen zu folgendem Ergebnis:

Positive Übereinstimmung in 85%, negative Übereinstimmung in 94% und keine Übereinstimmung in 5% der Fälle.

Zwischen RAST und Provokationstests fand sich ebenfalls eine ausreichende Korrelation von 76 bis 79% [Pepys J., Roth A., Carroll K. 1975].

Weiterhin wurden zahlreiche Korrelationen zwischen RAST und CAP ausgearbeitet, die an dieser Stelle graphisch am Beispiel eines *Milbenallergens* dargestellt werden soll (Abb16.).



**Abbildung 16: grafischer Vergleich des Pharmacia CAP-Tests und des Phadebas RAST** [Leimgruber A. et al. 1989]

### 5.2.3 Validierung des Ouchterlony-Tests

Bei der „Double-Immuno-Diffusion-Method of Ouchterlony“ formen sich Präzipitatbanden auf den behandelten Agarplatten, falls im Serum des Patienten IgG-Antikörper vorhanden sind [Wilson et al. 1981].

Die Spezifität dieses Tests liegt bei 60 bis 85%. Die Sensibilität liegt sogar bei 90 bis 100% [Johnson A. 1986].

### 5.2.4 Lymphozytentransformationstest

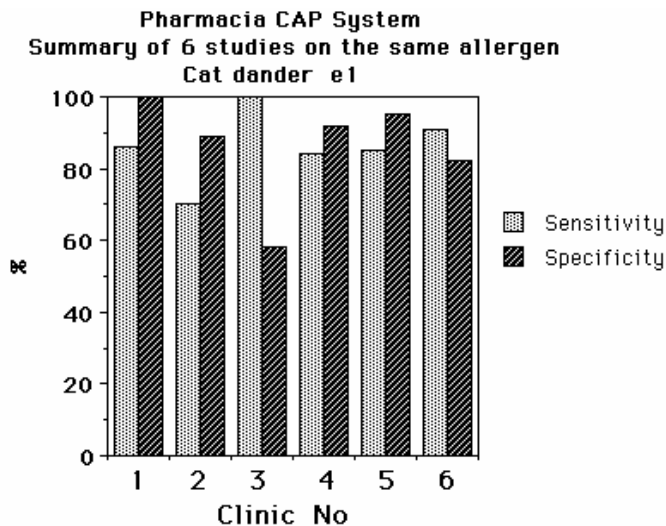
Der zellmedierte sogenannte LTT detektiert die Sensibilisierung des Patienten mittels Radioaktivitätsmessung.

Die Spezifität liegt bei 95% [Hanson und Penny 1974].

### 5.2.5 Validierung des CAP-Tests

Spezifität, Sensitivität sowie Effektivität des CAP-Tests beträgt 85,5 bis 100% (bei *Olivenpollen*). Bis auf Tests mit *Knäuelgras* waren Sensitivität und Spezifität beim CAP-System besser als beim RAST [Bousquet et al. 1990]. LEIMGRUBER et al. erstellten zahlreiche Studien und Auswertungen des CAP-Systems in Zusammenarbeit mit der Firma Pharmacia, von denen an dieser Stelle eine Graphik ausreichen soll, ohne genauere Details zu erläutern (Abb 17).

Weiterhin existieren zahlreiche Studien über Vergleiche zwischen Prick-Test und CAP-Tests. Heute steht fest, dass der CAP-Test eine höhere Spezifität bei Graspollen und eine höhere Sensitivität bei *Milben*- und *Katzenallergenen* aufweist [Plebani et al. 1995]. Wenn der Prick-Test als Standardreferenz benutzt wird, erreicht das CAP-System eine Spezifität von 90%. Die Sensitivität liegt bei 79% (höchste im Vergleich zu RAST). Das bedeutet, dass das CAP-System zu den genauesten Testverfahren zählt, die für eine sichere Diagnostik unentbehrlich sind [Kam et al. 1994].



**Abbildung 17: grafische Darstellung der 6 Studien zur CAP-Testung eines Katzenallergens hinsichtlich Sensitivität und Spezifität [Leimgruber A. et al. 1989]**

### 5.2.6 Validierung des Atopy Panel-Tests

Der Atopy Panel-Test beruht auf dem Prinzip der Bestimmung spezifischer IgE-Antikörper. 10 inhalative und 10 nutritive Allergene sind an Zellulosefäden gekoppelt. Die Bindung von spezifischem IgE daran wird mittels Chemilumineszenz detektiert. Die Sensitivität und Spezifität des MAST CLA Atopy Panel 20 Tests liegt bei 63% (*Hund*) bis 100% (*Lieschgras*, *Beifuß*) in Korrelation zum Pharmacia CAP-System [Lau S, Schulz G, Wahn U 1999].

### 5.2.7 Validierung des Allergy-Screen-Tests

Mit dem CAP-System stimmt der AllergyScreen Test in guter Näherung überein. Im Vergleich zum CLA Atopy Panel-Test (Firma Hitachi) zeigt der RIDA AllergyScreen Test eine weitaus bessere Übereinstimmung. Die genauen Resultate verglichen zum CAP-System sehen wie folgt aus [Kersten W. 1998]:

- Sensitivität: 84,3%
- Spezifität: 95%
- Präzision: 90,6%.

Die Sensitivität und Spezifität dieses Tests liegt zur Hauttestung in sehr guter Näherung und entspricht der eines herkömmlichen Einzelallergensystems [Kersten W. 1998].

### 5.2.8 Validierung des FastCheckPOC

Die Ergebnisse des FastCheckPOC zeigen, dass der neu entwickelte IgE-Schnelltest grundsätzlich eine sehr gute Übereinstimmung zum Pharmacia CAP-Test zeigt: *Gräser, Beifußpollen, Brennesselpollen, Hundepithelien, Alternaria* ergaben eine 100%ige positive Übereinstimmung, für die übrigen Inhalationsallergene lag die Rate zwischen 77% und 88%. Allerdings erbringt der Test überproportional häufig positive Befunde, zum Teil mit sehr hohen Messwerten – vor allem bei den *Tierepithelien* und den *Kräuterpollen* [Kersten W. 1992].

### 5.2.9 Validierung des Acti-Tip-Systems und des Allerg-Ens-Systems (Dexall)

Dieser Immunoassay, der auf einer enzymatischen Reaktion beruht, determiniert den totalen Serum-IgE-Anteil ebenso wie das sIgE im Patientenserum.

Zwischen dem Acti-Tip-System und dem RAST besteht eine sehr gute Übereinstimmung. Die Korrelationskoeffizienten für RAST liegen bei über 90%. Vergleichende Studien zwischen dem Auro-Dex Visual-Ens Test und dem Acti-Tip-Test ergaben eine Präzision von 90% bei positiven Sera und 99% bei negativen Sera [Kersten W. und von Wahl P. 1992].

### 5.2.10 Validierung des nasalen Provokationstests

DONAVAN et al. (1970) berichteten von einer viel höheren Konzentration an IgE in nasalen Polypen als im Serum des Patienten. Demnach sei ein nasaler Provokationstest sensibler als ein In vitro-Test. Dieses Ergebnis stehe stellvertretend für alle Provokationstests [Donavan P. et al. 1970].

### **5.3 Gesamtbeurteilung und Vergleich des Auro Dex-Visual Ens Tests**

Der Auro-Dex Visual-Ens Test ist in die Liste der sogenannten „Schnelltests“, die zahlreich auf dem Markt vorhanden sind, einzureihen.

Eine signifikante Sensitivität, Spezifität und Präzision stellen ihn gleichwertig zum Allerg-Ens-, Acti-Tip-, Allergy-Screen- sowie FastCheckPoc-Test. Allerdings scheint er in der Handhabung unkomplizierter und schneller durchführbar als ältere Schnelltests. Ebenso die Reproduzierbarkeit ist praxisrelevanter:

Mehrmaliges Einfrieren, Lagern und Auftauen der Sera veränderten das Ergebnis nicht (durchgeführt bei allen Patientensera, die von Herrn Prof. Zwacka zur Verfügung gestellt wurden). Frische Proben wurden nach erstmaliger Testung eingefroren und einige Zeit später (Tage bis Wochen) ein zweites Mal mit gleichem Resultat getestet.

Der Auro-Dex Visual-Ens Test beinhaltet alle häufigen Allergene und ist im Vergleich zu herkömmlichen In vitro- sowie In vivo-Verfahren hinreichend exakt in der Detektion einer Sensibilisierung.

### **5.4 Schlussfolgerung**

Der Auro-Dex Visual-Ens test dient dem Screening stärker ausgeprägter Allergien mit CAP-Klasse > 2.

Das Spektrum analysierbarer Allergie-Spezifitäten ist sehr weit, aber nicht genau auf das deutsche Allergen-Profil zugeschnitten.

Der Test erreicht für die meisten Allergene (Ausnahme *Hund* und *Alternaria*) eine sehr hohe Spezifität, Sensitivität sowie Präzision und ist somit anderen Screening Tests auf dem Markt äquivalent.



## **5.5 Perspektiven der *In vitro*-Allergiediagnostik**

Neben der Charakterisierung der Allergene auf protein- und biochemischer Ebene sind in den letzten Jahren wesentliche Fortschritte in der molekularen Allergencharakterisierung erzielt worden. Insbesondere das Mapping von T- und B-Zell-Epitopen und die Entwicklung von monoklonalen Antikörpern zeigen deutlich den Qualitätssprung, der erreicht wurde. Diese Entwicklung soll fortgesetzt werden. Insbesondere erscheint wichtig, die Allergenstandardisierung auf weitere Allergene auszudehnen. Ziel sollte sein, für alle klinisch relevanten Allergene eine optimale Allergenstandardisierung durchzuführen, die Eingang in serologische und zelluläre *In vitro*-Allergietests findet. Eine Fortentwicklung der technischen Validierung ist insbesondere für komplexe zelluläre Testverfahren dringend erforderlich. Parallel dazu wird zunehmend wichtig werden, die verschiedenen *In vitro*-Testverfahren zur serologischen allergenspezifischen IgE-Bestimmung und -Quantifizierung zu standardisieren. Es ist gefordert, eine optimale Vergleichbarkeit der quantitativen sIgE-Messung zwischen den verschiedenen Testsystemen und Herstellern zu erzielen. Dies ist ein langfristiger Prozess, der nur in enger Abstimmung mit der Industrie erfolgen kann. Ein wesentliches Instrument scheint hierbei die externe Qualitätskontrolle, die nach einer fakultativen Phase schließlich wie in anderen Bereichen der Labordiagnostik auch zur obligaten Qualitätskontrolle führen muss. Der „goldene Standard“ für eine medizinische Validierung ist nach wie vor die klinische Relevanz der beobachteten Sensibilisierung bzw. positiven Testreaktionen. Der sicherste Nachweis der klinischen Relevanz besteht in der Durchführung von (doppelblinden) Provokationstestungen am Erfolgsorgan. Es liegen nicht für alle *In vitro*-Testverfahren genügend Daten zur medizinischen Validierung vor. Diese Lücke sollte mittels Durchführung vergleichender Studien ähnlich der hier durchgeführten und beschriebenen Arbeit geschlossen werden. Neue Testverfahren können sich von vornherein dieser medizinischen Validierung unterziehen.

## **6. Zusammenfassung**

Screening-Untersuchungen mit Hilfe von Multiallergen-Kombinationen ermöglichen die Abklärung eines breiten Allergenspektrums im Serum und werden seit langer Zeit auf dem Markt angeboten. Dadurch wird der Nachweis einer Sensibilisierung je nach Testansatz nicht nur gegenüber einem Einzelallergen möglich, sondern auch gegenüber einer ganzen Allergengruppe. Hilfreich sind sie auch bei anamnestisch fraglichen Situationen und dem Zwang, mit vergleichbar geringen Serummengen Befunde zu erheben.

Der Vergleich des Auro-Dex Visual-Ens-Konzeptes mit dem etablierten Einzelsystem von Pharmacia hat gezeigt, dass es sich um ein überzeugendes Verfahren handelt, schnell mit wenig Kosten- und minimalen Materialaufwand, ein umfangreiches, spezifisches Sensibilisierungsmuster eines Patienten zu erfassen, das über Einzelallergenbestimmungen zu aufwendig und zu kostenintensiv wäre. Sensitivität, Spezifität und Präzision des Systems liegen zur Pharmacia-Testung in guter Näherung und entsprechen denen eines herkömmlichen Einzelallergensystems.

### ***6.1 Hintergrund***

Der Auro-Dex Visual-Ens Test ist ein leicht durchzuführender Suchtest für Allergien. Gold-markierte Anti-IgE-IgE-Komplexe reagieren mit Nitrozellulose gebundenen Allergenen und werden als rote Banden sichtbar. Die Ergebnisse werden klassifiziert als positiv oder negativ. Zusätzlich ist nach Herstellerangaben eine semi-quantitative Bestimmung des spezifischen IgE durch Vergleich der Banden mit einer Farbskala möglich, aber diese Möglichkeit wurde in der vorliegenden Studie nicht untersucht.

## 6.2 Methoden

In dieser Studie wurden zwei verschiedene Allergen-Kassetten untersucht. Eine enthielt 10 individuelle Allergene, die andere 10 Allergen-Gemische (mit insgesamt 24 verschiedenen Allergenen), einschließlich *Gräsern*, *Bäumen*, *Kräutern*, *Tieren*, *Milben* und *Schimmelpilzen*. Zur Analyse der Spezifität, Sensitivität und Präzision wurde der Auro-Dex Visual-Ens Test für Einzel-Allergene und Allergen-Gemische mit dem Pharmacia CAP Test verglichen. 100 unabhängige Serumproben von Allergikern und 12 von gesunden Kontrollen wurden in dieser Studie ausgewertet.

## 6.3 Ergebnisse

Bei einer CAP Klasse von über 2 betrug die Sensitivität des Auro-Dex Visual-Ens Test für Einzel-Allergene 54,5% bis 100% (geringste Sensitivität für *Alternaria* (63,6%) und *Hund* (54,5%)). Für Allergen-Gemische betrug die Sensitivität des Auro-Dex Visual-Ens Test 78,6% bis 100%. Die darin enthaltenen Nachweise für *Alternaria* und *Hund* erreichten 90,9% und 81,8%. Die Spezifität für alle Allergene in beiden Auro-Dex Visual-Ens Test Formaten, Einzel-Allergene und Allergen-Gemische, betrug 95,8% bis 100%.

Folgende **Mittelwerte** über alle Allergene wurden berechnet:

Sensitivität: CAP/Auro-Dex Visual-Ens: **85,9 %**

Spezifität: CAP/Auro-Dex Visual-Ens: **97,9 %**

Präzision: CAP/Auro-Dex Visual-Ens: **91,6 %**

## ***6.4 Diskussion und Schlussfolgerung***

Derzeit befinden sich zahlreiche sogenannte „Schnelltests“ auf dem Markt, in deren Reihe der Auro-Dex Visual-Ens Test gleichwertig in Hinsicht auf Sensitivität, Spezifität und Präzision einzugliedern ist.

In der Handhabung erscheint er unkomplizierter und schneller durchführbar als ältere Schnelltests. Die Reproduzierbarkeit ist hochwertig.

Dieser Test der Firma Dexall erscheint geeignet für ein Screening relevanter Sensibilisierungen bei Patienten mit fraglichen Allergien.

## Literaturverzeichnis

1. Aas K., Johansson SGO.: The radioallergosorbent test (RAST) in the In-vitro-diagnosis of multiple reagenic allergy. Journal of Allergy and Clinical Immunology 1971; 48: 134.
2. Arlian LG., Morgan MS., Quirce S., Maranon F., Fernandez-Caldas E.: Characterization of allergens of Anisakis simplex. Allergy 2003 Dec.; 58(12): 1299-1303.
3. Ärzte-Zeitung 18.07.2001 ([www.aerztezeitung.de/docs/2001/07/18/132a0809.asp](http://www.aerztezeitung.de/docs/2001/07/18/132a0809.asp)) vom 09.09.2004.
4. Backer V., Ulrik CS., Wendelboe D., Bach-Mortensen N., Hansen KK., Laursen EM., Dirksen A.: Distribution of serum IgE in children and adolescents aged 7 to 16 years in Copenhagen, in relation to factors of importance. Allergy 1992; 47(5): 484-489.
5. Baxevanis CN., Papadopoulos NG., Katsarou-Katsari A., Papamichail M.: Regulation of allergen-specific immune responses by CD4+ CD45R+ cells in patients with allergic contact dermatitis. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 1994; 94 (5): 917-927. Lymphozytentransformationstest ([http://www.allum.de/index.php?mod=diagnostik&d\\_id=4&back\\_ok=true](http://www.allum.de/index.php?mod=diagnostik&d_id=4&back_ok=true)) vom 25.05.2004.
6. Berg T., Johansson SGO.: Allergy diagnosis with the radioallergosorbent test. A comparison with the results of skin and provocations tests in an unselected group of children with asthma and hay fever. Journal of Allergy and Clinical Immunology 1974; 54: 209.
7. Blanco C., Carrillo T., Ortega N.: Comparison of skin-prick test and specific serum IgE determination for the diagnosis of latex allergy. Clinical and Experimental Allergy. 1998 Aug; 28(8): 971-976.
8. Boccagni P., Favari F., Zanoni G., Pezzini A., Tridente G.: Comparison of four in vitro assays for specific IgE detection. Int J Clin Lab Res 1994; 24: 102-105.

9. Bousquet J., Chanez P., Chanal I., Michel FB.: Comparison between RAST and Pharmacia CAP system: a new automated specific IgE assay. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 1990 Jun; 85(6): 1039-1043.
  
10. Cabanas, R., Lopez Serrana MC., Carreira, J., Ventas P., Polo F., Caballero MT., Contreras J., Barranco J., Moreno Ancillo A.: Importance of albumin in cross-reactivity among cat, dog and horse allergens. – *Journal of Investig. Allergology and Clinical Immunology* 2000; 10(2):71-77.
  
11. *Clinical & Experimental Allergy [Abstract]*. 1998; 28(8): 971.
  
12. Contents of ImmunoCAP InVitroSight, Pharmacia Diagnostics AB 2002 (<http://www.immunocapinvitrosight.com/templates>) vom 20.10.2003.
  
13. Coombs R., Gell, P.: The classification of allergic reactions underlying disease. In: "Clinical aspects of immunology", Gell, P.G.H, Coombs, R.R.A, (Eds.), Davis, Philadelphia 1963: 317.
  
14. Crobach MJ., Kaptein AA., Kramps JA., Hermans J., Ridderikhoff J., Mulder JD.: The Phadiatop test compared with RAST, with the CAP system; proposal for a third Phadiatop outcome: "inconclusive". *Allergy* 1994; 49: 170-176.
  
15. Czech W., Krutmann J., Schopf E., Kapp A.: Serum eosinophil cationic protein (ECP) is a sensitive measure for disease activity in atopic dermatitis. *Br. Journal of Dermatology* 1992; 126: 351-355.
  
16. de Weck AL., Sanz ML.: Cellular allergen stimulation test (CAST), a review. *J Investig Allergol Clin Immunol. Review* 2004; 14(4): 253-273.
  
17. Donavan P., Johansson SGO., Bennich H., Scothill JF.: Immunoglobulins in nasal polyp fluid. *International Archives of Allergy* 1970; 37: 154.
  
18. Dörner K. (Hrsg.): *Klinische Chemie und Hämatologie* Thieme-Verlag 2001, Vierte Auflage.
  
19. Ern G., Fischbach R.: Allergiediagnostik: Provokationstests [Abstract]. *Allergie und Atmung* 2002 (<http://www.allergie.qualimedic.de>) am 03.07.2004.

20. Ferguson AC., Murray AB.: The frequency and severity of cat allergy vs. dog allergy in atopic children. Journal of Clinical Immunology 1983; 73: 145-149.
21. Free Encyclopedia, Allergen, Immunology 05.10.2005  
(<http://www.wikipedia.org/wiki/allergen>) vom 15.10.2005.
22. Free Encyclopedia, Botany, Pollen 2005 (<http://www.wikipedia.org/wiki/pollen>) vom 15.10.2005.
23. Free Encyclopedia, Pollenflugkalender 2005  
(<http://www.wikipedia.org/wiki/pollenflugkalender>) vom 15.10.2005.
24. Grevers G., Röcken M.: Taschenatlas der Allergologie, Stuttgart-New York 2001, Thieme-Verlag, Vierte Auflage.
25. Hanson G., Penny P. e: (Lymphocyte transformation 1974) World Health Organization--basic radiographic system (WHO-BRS) unit: experimental clinical evaluation. Clinical Radiology. 1990 May; 41(5): 321-325.
26. Hamilton RG., Kagey-Sobotka A.: In vitro diagnostic tests of IgE-mediated diseases. Clin Allergy Immunol 2000; 15: 89-110.
27. Heppt W., Renz H., Röcken M. (Hrsg.): Allergologie, Springer-Verlag Berlin-Heidelberg 1998: 150ff.
28. Host A. et al.: Allergy testing in children. Why, who, when and how? Allergy 2003; 58: 559-569.
29. Hubscher TT.: A new in vitro allergy diagnostic system: The Acti Tip Allerg E and Allerg Ens test system for the determination and quantitation of Total serum IgE and allergen specific IgE in human serum. Allerg Immunol (Paris) 1990; 22(9): 360-366.
30. Humbel R. L.: Autoantikörper und Autoimmunerkrankungen (deutsche Übersetzung), Elsevier, 1998.
31. Janeway C., Travers P., Walport M., Shlomchik M.: Immunologie, Spektrum - akademischer Verlag Gustav Fischer 2001, Fünfte Auflage.

32. Ishizaka K, Ishizaka T.: Identification of IgE-antibodies as a carrier of reaginic activity. *Journal of Immunology* 1967; 99: 1187-1198.
33. Jeep S., Paul M., Muller U., Kunkel G.: Honeybee venom allergy: Immunoblot studies in allergic patients after immunotherapy und before sting challenge. *Allergy* 1996; 51: 540-546.
34. Kam, Hsieh, Tzu Chi: *Ann Allergy [Abstract]*, Hospital Hualien, Republic of China 1994 Oct; 73(4): 329-336.
35. Kersten W.: Comparison of the AllergyScreen (R-Biopharm AG) with the Skin Test (HAL, Düsseldorf In vivo) and the CAP-System (Pharmacia, Freiburg In vitro) Institute for Environmental and Industrial Medicine, 2003.
36. Kersten W.: Vergleich des AllergyScreen-Systems mit dem CLA- und dem CAP-System. *Internistische Praxis*, 1998; 38: 941-945.
37. Kersten W., von Wahl PG.: Comparison between In-vitro CAP-RAST (Pharmacia) and Acti-Tip (HAL-Dexall) for total IgE and specific IgE. *Allergologie* 1992; 15: 311-316.
38. Kunicki TJ., Aster RH.: Isolation and immunologic characterization of the human platelet isoantigen P1 (A1). *Mol Immunol* 1979; 16: 353.
39. Lau S., Schulz G., Wahn U.: Bestimmung von spezifischem Serum-IgE mit Hilfe des MAST-CLA Atopy Panel 20 – eine Vergleichsstudie. *Allergo Journal* 1999; 8: 29.
40. Leimgruber A., Peitrequin R., Mosimann B., Claeys M., Seppey M., Jaccard Y., Pécoud A.: The Pharmacia CAP System: A new Assay for specific IgE. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*; 1989; 83: 176.
41. Löffler G., Petrides P.: *Biochemie und Pathobiochemie*. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 1998. Sechste Auflage.
42. MacGlashan DW. Jr.: Releaseability of human basophiles: cellular sensitivity and maximal histamine release are independent variables. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1993; 91: 605-615.



43. 15. Mainzer Workshop 2003: Sind IgE-Werte von in vitro-Tests vergleichbar? Allergo Journal 3. April 2003: 173.
44. Marschall W. J.: Clinical Chemistry. Mosby, 2000. 4th Edition.
45. MedizInfo, ELISA-Testverfahren 2003  
(<http://www.medizinfo.de/waldundwiese/fsme/elisa.htm>) vom 05.09.2003.
46. Mygind N.: Grundriss der Allergologie (übersetzt von M. Schnitzler). Steinkopff-Verlag, 1989.
47. NetDoctor, Kreuzallergien 2003  
([http://www.netdoctor.de/krankheiten/baby\\_und\\_kind/allergien\\_kinder.htm](http://www.netdoctor.de/krankheiten/baby_und_kind/allergien_kinder.htm)) vom 03.01.2004.
48. Norman PS., Lichtenstein LM., Ishizaka K.: Diagnostic tests in ragweed hay fever. Journal of Allergy and Clinical Immunology 1973; 52: 210.
49. Ollert M. et al.: Prognostische Bedeutung von Immunoblot-Untersuchungen bei Hymenopterengift-Allergie. Allergologie 1999; 22(2): 78-79.
50. Kleine-Tebbe J., Fuchs T., Klimek L., Kühr J., Niggemann B., Rakoski MJ. Saloga J., Sennekamp J., Simon J.: Die spezifische Immuntherapie (Hyposensibilisierung) mit Allergenen. Positionspapier der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie Allergo Journal 9, 2000: 317-324.
51. Pepys J., Jenkins PA.: Precipitin (F.L.H.) Test in Farmer's Lung. Thorax. 1965 Jan; 20: 21-25.
52. Pepys J., Roth A., Carroll KB.: RAST, skin and nasal tests and the history in grass pollen allergy. Clinical Allergy 1975; 5: 431-442.
53. Pfannenstiel C., Friedrichs F., Barker M., Ott H., Heimann G., Merk H.: Journal pädiatrische Allergologie in Klinik und Praxis 2001; 3: 15-19.
54. Plebani, Borghesan, Faggian: Allergy. Asthma Immunology, University-Hospital of Padova, Italy. 1995; 74(1): 2-3.

55. Pope A., Patterson R., Burge H.: Indoor Allergens - Assessing and Controlling Adverse Health Effects. Institute of Medicine, National Academy Press 1993: 66ff.
56. Plusa T., Tomaszewicz-Fryca J.: Comparison of reproducibility of selected allergologic tests in vitro. Pol Merkuriusz Lek. 1998; 4: 90-95.
57. Position paper: Allergen standardization and skin tests. Allergy 1993; 48(14): 48-82.
58. Rauscher, C.: Vorlesungsskript Allergie und Autoimmunität 2003 ([http://www.uni-regensburg.de/Fakultaeten/Medizin/Klinische\\_Chemie/lehre/vorlesung/allergie\\_autoimmunitaet.pdf](http://www.uni-regensburg.de/Fakultaeten/Medizin/Klinische_Chemie/lehre/vorlesung/allergie_autoimmunitaet.pdf)) vom 23.09.04.
59. Reddy PM., Nagaya H., Pascual HC., Sang KL., Gupte S., Lauridsen J., Jerome D.: Reappraisal of intracutaneous tests in the diagnosis of reaginic allergy. Allergy and Immunology Section 1977; 61(1): 36-41.
60. Ring, J.: Klinik und Einteilung allergischer Erkrankungen. Geschichtliche Entwicklung. Angewandte Allergologie, MMW Taschenbuch, München 1995, Zweite Auflage: 13ff.
61. Roche: Lexikon der Medizin, Urban und Fischer 2003, Fünfte Auflage.
62. Schwertner H.: Kreuzreaktionen zwischen Allergenen [Abstract]. DST GmbH, Schwerin, 2003.
63. Staikuniene J., Japertiene LM., Sakalauskas R.: Influence of sensitization to pollen and food allergens on pollinosis clinical symptoms. Medicina (Kaunas) 2005; 41(3): 208-216.
64. Staines N., Brostoff J., James K.: Immunologisches Grundwissen. Spektrum akademischer Verlag Gustav Fischer 1999; Dritte Auflage: 105ff.
65. Stenius B., Wide L., Seymour WM., Holford-Stevens V., Pepys J.: Clinical significance of specific IgE to common allergens I. Relationship of specific IgE against D.spp. and grass pollen to skin and nasal tests and history. Clinical Allergy 1971; 1: 37.

66. Sutton BJ., Gould HJ.: The human IgE network. *Nature* 1993; 366: 421-428.
67. Tschopp JM., Sistek D., Schindler C., Leuenberger P., Perruchoud AP., Wuthrich B., Brutsche M., Zellweger JP., Karrer W., Brandli O.: Current allergic asthma and rhinitis: diagnostic efficiency of three commonly used atopic markers (IgE, skin prick tests, and Phadiatop). Results from 8329 randomized adults from the SAPALDIA Study. Swiss Study on Air Pollution and Lung Diseases in Adults. *Allergy* 1998; 53: 608-613.
68. UniCAP Total IgE: Directions for use. Pharmacia Diagnostics, Uppsala Sweden 2002.
69. Urbanek R., Wahn, U.: Allergologische Labordiagnostik. Pädiatrische Allergologie und Immunologie, Hrsg. U. Wahn, E. Seger, V. Wahn, Urban und Fischer 1999.
70. vanDurme P., Stevens E.: The "Pharmacia CAP System": a more sensitive tool for detection of specific IgE in the serum: a clinical evaluation. *Allergologie*; 1989; 12: 41.
71. Venge P., Bystrom J., Carlson M., Kakansson L., Karawaczyk M., Peterson C., Seveus L., Trulsson A.: Eosinophil cationic protein (ECP); molecular biological properties and the use of ECP as a marker of eosinophil activation in disease. *Clinical Experimental Allergy* 1999; 29: 1172-1186.
72. Wahn U., Wichmann H.: Spezialbericht Allergien. Hrsg. Statistisches Bundesamt, Metzler-Poeschel Verlag, Stuttgart 2000.
73. Winther L., Moseholm L., Reimert CM., Stahl-Skov P., Kaergaard-Poulsen L.: Basophil histamine release, IgE, eosinophil counts, ECP and EPX are related to the severity of symptoms in seasonal allergic rhinitis. *Allergy* 1999; 29: 513-521.
74. Wilson JD., Sutherland DC., Thomas AC.: Has the change to beta-agonists combined with oral theophylline increased cases of fatal asthma? *Lancet*. 1981 Jun; 1(8232):1235-1237.

75. Wuthrich B., Joller-Jemelka H., Kagi MK.: Levels of soluble ICAM-1 in atopic dermatitis. A new marker for monitoring the clinical activity? *Allergy* 1995; 50 (38): 88-89.
76. Vorlesungsskript ([http://www.bgfa.ruhr-uni-bochum.de/pdf/VorlesungArbeitsmedizinRaulf-Heimsoth\\_08.06.05.pdf](http://www.bgfa.ruhr-uni-bochum.de/pdf/VorlesungArbeitsmedizinRaulf-Heimsoth_08.06.05.pdf)) vom 08.06.2005.
77. Zuberbier T. et al.: Pseudoallergy or nonallergic hypersensitivity. *Allergy*. 1999 Apr; 54(4): 397-398.
78. Zuberbier T., Runge DM., Schwertner H., Wahn U.: DST Diagnostic. Charité Berlin Science & Technology GmbH, Schwerin, 2004.

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Fotografie verschiedener Allergie-auslösender Pollen.....	3
Abbildung 2: ausgewählte Pollen als Inhalationsallergene.....	16
Abbildung 3: Übersicht über die diagnostisch nutzbaren Schritte der allergischen Reaktion	19
Abbildung 4: Fotografie eines Armes mit Urticaria nach Prick-Testung mit verschiedenen Allergenen.....	20
Abbildung 5: Übersicht über das Prinzip des sogenannten LTT.....	27
Abbildung 6: Fotografie der Verpackung mit Anleitung, der zwei Testkassetten und der Pipette .....	44
Abbildung 7: Vier Kassetten unterschiedlicher Patienten .....	46
Abbildung 8: richtige positive Werte der Einzelallergene im Auro-Dex Visual-Ens Test im Bezug zum CAP-Test in Prozent.....	52
Abbildung 9: falsch positive Werte für die Einzelallergene im Auro-Dex Visual-Ens Test im Bezug zum CAP-Test in Prozent.....	53
Abbildung 10: richtig negative Werte der Einzelallergene im Auro-Dex Visual-Ens Test im Bezug zum CAP-Test in Prozent.....	54
Abbildung 11: falsch negative Werte der Einzelallergene im Auro-Dex Visual-Ens Test in Bezug zum CAP-Test in Prozent.....	55
Abbildung 12: richtig positive Werte der Allergengemische im Auro-Dex Visual-Ens Test im Bezug zum CAP-Test in Prozent.....	56
Abbildung 13: falsch negative Werte der Allergengemische im Auro-Dex Visual-Ens Test im Bezug zum CAP-Test in Prozent.....	57
Abbildung 14: richtig positive Werte der Einzelallergene im Auro-Dex Visual-Ens Test im Bezug zum CAP-Test mit den positiven CAP-Werten der Klasse 1 und 2 in Prozent...	58
Abbildung 15: richtig negative Werte der Einzelallergene im Auro-Dex Visual-Ens Test im Bezug zum CAP-Test mit dem CAP-Wert 0 in Prozent .....	59
Abbildung 16: grafischer Vergleich des Pharmacia CAP-Tests und des Phadebas RAST ...	68
Abbildung 17: grafische Darstellung der 6 Studien zur CAP-Testung eines Katzenallergens hinsichtlich Sensitivität und Spezifität.....	70

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Überempfindlichkeitsreaktionen nach GELL und COOMBS .....	13
Tabelle 2: Evaluierung der spezifischen IgE-Klasse des CAP-Systems.....	26
Tabelle 3: Übersicht über saisonale Allergene der Mix-Kassetten.....	39
Tabelle 4: Übersicht über perenniale Allergene der Mix-Kassetten.....	40
Tabelle 5: Die erste Kassette (MX) führt verschiedene Allergengemische auf: .....	45
Tabelle 6: Die zweite Kassette (S) führt die einzelnen Inhalationsallergene auf.....	45
Tabelle 7: Kreuztabelle: Korrelation Dexall-Gras-Mix versus CAP-Lieschgras.....	47
Tabelle 8: Sensitivität.....	60
Tabelle 9: Spezifität .....	61
Tabelle 10: Präzision .....	61
Tabelle 11: Vorschlag einer geänderten Anordnung der Einzelallergene zur verbesserten Übersichtlichkeit.....	64
Tabelle 12: Vergleich der Messwerte der Gemisch- und Einzelallergenkassette.....	65
Tabelle 13: tabellarische Abbildung des Vergleichs von Prick-, CAP- und AllergyScreen-Test, Angaben in Prozent .....	67

## **Danksagung**

Herrn PD Dr. med. U.R. Markert danke ich für die Überlassung des Themas, die Beratung und wissenschaftliche Betreuung sowie die umfassende Unterstützung bei der Konzipierung, Durchführung und Auswertung der Studie.

Herrn Prof. Dr. med. habil. G. Zwacka (Robert-Koch-Krankenhaus Apolda) danke ich für die klinische Betreuung der Patienten und die freundliche Bereitstellung der Patientendaten,  
ebenso Fr. Dr. rer. nat. C. Hipler (Universitätshautklinik Jena) für die freundliche Unterstützung und Beratung im Rahmen der praktischen Arbeit.

Es gilt ebenfalls mein Dank allen Mitarbeitern des Plazentalabors der Friedrich-Schiller-Universität Jena sowie des biochemischen Labors der Universitäts-Hautklinik Jena.

Die Durchführung der Arbeit wurde ermöglicht von Dr. Thomas Hubscher durch die kostenlose Bereitstellung der Auro-Dex Visual-Ens Tests.

## Lebenslauf

**Name:** Pietsch

**Vorname:** Sabine

**Geburtsdatum:** 19. Februar 1981

**Geburtsort:** Weimar

**Anschrift:** Amalienstraße 11, 99423 Weimar

**Staatsangehörigkeit:** deutsch

**Familienstand:** ledig

**Schulbildung:** Sep 1987 - Sep 1988 Grundschule Hopfgarten  
Okt 1988 - Sep 1992 Grundschule Niederzimmern  
Okt 1992 - Jul 1999 Sophiengymnasium Weimar

**Schulabschluss:** 1999, Abitur

**Studium:** Okt 1999 bis Jan 2005 Zahnmedizin an Friedrich-Schiller-Universität Jena

**Studienabschluss:** Jan 2005, Staatsexamen und Approbation

**Derzeitige Tätigkeit:** Assistenz Zahnärztin in der Praxis Dr. Thomas Schenk, Weimar, seit Mai 2005

**Promotionsarbeit:**

Beginn:	Jun 2003, voraussichtliche Dissertation Winter 2006
Betreuer:	PD Dr. Udo Markert, Plazentalabor, Fachrichtung Immunologie/Allergologie
Thema:	Vergleich des Visual-Ens-Pneumoallergen-Screening-Test mit dem Pharmacia CAP-System hinsichtlich Spezifität und Sensibilität

Ort, Datum

Unterschrift



## **Publikationsliste:**

1. Pietsch S, Hipler C, Zwacka G, Markert UR.  
Performance of Auro-Dex Visual-Ens (Dexall) test compared to  
Pharmacia CAP and prick test in terms of specificity and sensitivity.  
J Clin Lab Anal (submitted)
  
2. Pietsch S, Zwacka G, Markert UR  
Performance of the Auro-Dex-Visual-Ens test compared to Pharmacia CAP  
and prick test in terms of specificity and sensitivity  
The XXIII Congress of the European Academy of Allergology and Clinical  
Immunology, 12-16 June 2004, Amsterdam, The Netherlands.

## **Ehrenwörtliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Person bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt hat: PD Dr. med. Udo Markert,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Ort, Datum

Unterschrift des Verfassers